

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

SUR LA PRODUCTION DE TOXINE DIPHTÉRIQUE DANS LE BOUILLON MARTIN

par M. S. SCHMIDT.

(Travail de l'Institut sérothérapique de l'Etat danois.)

Au début de nos recherches sur le titrage du sérum antidiphtérique *in vitro* (méthode de G. Ramon), nous avons observé que la floculation apparaissait beaucoup plus nettement en présence de la toxine qui nous était fournie par l'Institut Pasteur que lorsque nous utilisions les toxines préparées par nous-même. La toxine de l'Institut Pasteur possédait quelques propriétés intéressantes dont nos toxines étaient dépourvues : la réaction en présence de l'antitoxine y apparaissait beaucoup plus nettement, la teinte en était plus pâle (la toxine était presque incolore), ce qui rendait plus facile la lecture du « précipité indicateur », en un mot, elle se prêtait mieux à l'usage de toxine-étalon que celles que nous préparions, même à pouvoir toxique égal. Par conséquent, il nous a paru intéressant d'appliquer le procédé employé à l'Institut Pasteur pour la production de la toxine diphtérique. Cette méthode a été mise au point par M. Martin et elle utilise un milieu qui diffère fondamentalement de ceux qu'on emploie généralement.

Au cours de nos recherches, nous avons eu l'impression que

la constance des résultats, si importante dans la pratique de la sérothérapie, que l'on a vainement cherché à atteindre pour la production de cette toxine, peut être obtenue par l'emploi du milieu Martin, même si on accorde peu d'attention aux facteurs qui sont généralement considérés comme indispensables dans la production de bonnes toxines : par exemple la concentration en *ions hydrogène*, question toujours très discutée. Nous avons pensé que la publication de nos résultats, bien que leur nombre jusqu'à présent soit assez restreint, ainsi que de quelques expériences faites au cours de ce travail, ne serait pas dénuée d'intérêt.

Le premier essai a totalement échoué. La toxine obtenue était presque atoxique : 1 cent. cube ne renfermait que 100 doses mortelles environ.

A l'Institut Pasteur, on attache une grande importance à la matière dont sont faites les marmites dans lesquelles on prépare la solution de peptone : elles sont en terre ou en grès. Il nous semble vraisemblable que l'insuccès de ce premier essai puisse être attribué à la composition chimique des récipients que nous avons utilisés pour l'autodigestion des estomacs de porcs. Nous avons employé des récipients de métal émaillé ; l'émail de ces marmites présente presque toujours quelques fêlures et le liquide très acide dissout une quantité de métal plus ou moins grande, ce qui peut exercer une action nocive sur la fonction toxigène du bacille producteur, comme l'ont démontré les expériences de Walbum (Etudes sur la formation de toxines microbiennes, Copenhague 1922).

En outre, les bouillons étaient ensemencés avec notre propre souche de bacille diphtérique qui n'était point entraînée à pousser sur milieu Martin ; ce fait joue peut-être un rôle prépondérant : nous en reparlerons plus tard.

En tous cas, nous avons jugé qu'il était convenable d'exclure ce premier essai où les conditions d'expérience avaient apporté de nombreuses causes d'erreurs. Dans le tableau ci-joint, nous n'avons fait figurer que des toxines préparées scrupuleusement d'après les méthodes que nous avons eu l'occasion d'apprendre à l'Institut Pasteur même, grâce à l'obligeance et à l'amabilité de M. Martin et de ses collaborateurs auxquels nous adressons ici l'expression de nos vifs remerciements.

Le tableau ci-joint présente les résultats d'une quinzaine d'expériences portant sur de grandes quantités de toxine : 20 litres en moyenne. On y voit que le pouvoir moyen des toxines est voisin de 0,001 (c'est-à-dire que la dose minima mortelle est d'environ 0 c. c. 001) pour celles préparées avec la souche de bacille diphtérique provenant de l'Institut Pasteur, résultat que nous avons exceptionnellement obtenu avec notre milieu de culture ordinaire constitué par un simple bouillon de viande de veau (1 kilogramme de viande pour 2 litres d'eau, additionné de 1,5 à 2 p. 100 de peptone de Witte et de 0,2 p. 100 de glucose). Avec ces dernières, la dose minima mortelle était en moyenne de 0,0025 ; ces toxines, bien entendu, étaient assez fortes pour être utilisées comme antigène dans la pratique de l'immunisation, mais étaient inférieures, quant aux floculines, aux toxines Martin. Il ressort également de ce tableau qu'il n'y a aucun rapport entre le pH du bouillon avant l'ensemencement et le pouvoir toxique de la toxine obtenue. En revanche, il semble qu'on puisse remarquer une certaine relation entre le pH initial et le moment où le voile est pleinement développé. Le tableau montre des variations assez remarquables du pH des milieux avant l'ensemencement. Pour Martin il n'est pas nécessaire que le milieu définitif ait un pH fixe, à condition que l'alcalinisation du milieu soit faite après l'ébullition du mélange de la solution de peptone fournie par les estomacs de porcs et de la macération de viande. On ajoute à une prise de 10 cent. cubes, additionnée de quelques gouttes de solution de phénolphtaléine, un volume de lessive de soude suffisant pour que le liquide *chaud* prenne une teinte rose pâle, à peine visible, correspondant à un pH voisin de 8,3. Nous employons une solution de soude 5 N ; la quantité qu'il faut ajouter est environ de 15 cent. cubes par litre de bouillon.

Mais le bouillon, après l'alcalinisation, doit subir deux stérilisations, d'abord pour précipiter les phosphates des métaux alcalino-terreux, puis une seconde après la distribution dans les vases de culture, ce qui provoque une diminution plus ou moins grande du pH .

Dès le commencement de nos recherches nous avons modifié la préparation du bouillon que nous avons étudiée lors de notre séjour à l'Institut Pasteur. Cette modification consiste à

TABLEAU I. — **Extrait d**

| NUMÉRO de la toxine | DATE de l'ensemencement | pH du bouillon | DATE de la récolte |
|------------------------|-------------------------------|-------------------|-----------------------|
| a) O 24 | 26 août 1924. | 8,0 | 5 septembre 1924. |
| b) O 24 | » | 7,6 | » |
| c) O 24 | » | 7,3 | » |
| a) I 24. | 1 ^{er} octobre 1924. | 7,7 | 10 octobre 1924. |
| b) I 24. | » | 7,7 | » |
| a) II 24 | 18 octobre 1924. | 7,7 | 27 octobre 1924. |
| b) II 24 | » | » | » |
| III 24 | 29 octobre 1924. | 7,5 | 10 novembre 1924. |
| IV 24 | 4 novembre 1924. | 7,3 | 15 novembre 1924. |
| V 24. | 17 novembre 1924. | 7,9 | 2 décembre 1924. |
| VI 24 | 2 décembre 1924. | 7,5 | 13 décembre 1924. |
| VII 24. | 5 décembre 1924. | 7,9 | 20 décembre 1924. |
| VIII 24 | 20 décembre 1924. | 7,4 | 29 décembre 1924. |
| IX 25 | 24 février 1925. | 7,5 | 6 mars 1925. |
| a) X 25 | 6 mars 1925. | 7,95 | 16 mars 1925. |
| b) X 25 | » | » | » |
| a) XI 25. | 20 mars 1925. | 8,0 | 2 avril 1925. |
| b) XI 25. | » | » | » |
| a) XII 25 | 11 avril 1925. | 7,95 | 21 avril 1925. |
| b) XII 25 | » | » | » |
| a) XIII 25 | 23 avril 1925. | 8,0 | 4 mai 1925. |
| b) XIII 25 | » | » | » |
| a) XIV 25 | 12 mai 1925. | 7,6 | 22 mai 1925. |
| b) XIV 25 | » | » | » |

faire bouillir *ensemble* le bouillon d'estomacs de porcs et la macération de viande. Nous ne savons pas si ce détail est d'une grande importance, mais, tout d'abord, il entraîne une certaine économie de temps et il est bien possible que la solution de

Protocole de préparation.

| pH de la toxine | DOSE minima mortelle de la toxine en cent. cubes | QUANTITÉ préparée en litres | LE VOILE est en pleine évolution après | BACILLE EMPLOYÉ |
|--------------------|---|-----------------------------------|---|--|
| 8,04 8,3 8,2 | 0,0016 0,002 0,0025 | 10,0 10,0 10,0 | 70 heures. 50 — 40 — | Bacille de l'Institut Pasteur. Bacille de l'Institut Pasteur. Bacille de l'Institut Pasteur. |
| 8,0 8,4 | 0,0015 0,006 | 20,0 20,0 | 26 heures. 48 — | Bacille de l'Institut Pasteur. Bacille de Copenhague. |
| 7,9 8,3 | 0,0009 0,0035 | 20,0 20,0 | 40 heures. 40 — | Bacille de l'Institut Pasteur. Bacille de Copenhague. |
| 8,0 | 0,001 | 20,0 | 30 heures. | Bacille de l'Institut Pasteur. |
| 8,5 | 0,001 | 30,0 | 30 heures. | Bacille de l'Institut Pasteur. |
| 7,9 | 0,0011 | 40,0 | 100 heures. | Bacille de l'Institut Pasteur. |
| 8,0 | 0,0011 | 30,0 | 36 heures. | Bacille de l'Institut Pasteur. |
| 8,4 | 0,0008 | 40,0 | 60 heures. | Bacille de l'Institut Pasteur. |
| 7,9 | 0,0012 | 30,0 | 30 heures. | Bacille de l'Institut Pasteur. |
| 7,3 | 0,0011 | 25,0 | 40 heures. | Bacille de l'Institut Pasteur. |
| 7,8 8,1 | 0,0011 0,0017 | 30,0 30,0 | 36 heures. 40 — | Bacille de l'Institut Pasteur. Bacille de Copenhague. |
| 7,9 7,5 | 0,001 0,0015 | 25,0 25,0 | 70 heures. 96 — | Bacille de l'Institut Pasteur. Bacille de Copenhague. |
| 8,6 8,33 | 0,0012 0,0015 | 28,0 28,0 | 60 heures. 60 — | Bacille de l'Institut Pasteur. Bacille de Copenhague. |
| 8,1 8,4 | 0,0011 0,0017 | 20,0 20,0 | 72 heures. 72 — | Bacille de l'Institut Pasteur. Bacille de Copenhague. |
| 7,9 7,9 | 0,0012 0,0015 | 30,0 30,0 | 40 heures. 50 — | Bacille de l'Institut Pasteur. Bacille de Copenhague. |

peptone soit meilleure quand elle est fraîchement préparée. Dans une séance, nous avons préparé une très grande quantité de solution de peptone et nous en avons conservé une partie à la cave. Quelques mois plus tard, le liquide fut employé pour

la préparation d'une toxine, mais celle-ci fut considérablement inférieure à celle que nous obtenions d'ordinaire. Le fait surprenant, c'est que le pH du milieu avant l'ensemencement et celui de la toxine récoltée au dixième jour se montraient quelquefois d'une parfaite égalité. Cette constatation pouvait amener à supposer que les variations du pH pendant le développement du bacille étaient nulles ou faibles. Les résultats des divers auteurs sont d'ailleurs contradictoires. Walbum, par exemple, prétend qu'une culture devient toujours alcaline si le pH du bouillon est supérieur à 7,20. Sans entrer dans la discussion de ce problème, qui a surtout un intérêt théorique, nous voulons mentionner qu'à plusieurs reprises, dans un milieu où le pH était voisin de 8,0 au début, la réaction devenait acide et le pH se rapprochait de 6. Certainement, ce sont des résultats qui dépendent beaucoup du milieu et du bacille employés. Nous indiquons ci-dessous trois expériences montrant les résultats que l'on obtient le plus souvent quand on suit les oscillations du pH dans les cultures en bouillon Martin, qui produisent une toxine forte.

TABLEAU II. — Variation du pH dans les cultures.

| pH | TOXINE α | TOXINE β | TOXINE γ |
|-----------------------|-----------------|----------------|-----------------|
| Après 0 h. 24 | 7,90 | 7,95 | 7,95 |
| — 1 h. 24 | 7,90 | 7,90 | 7,80 |
| — 2 h. 24 | 7,70 | 7,70 | 7,53 |
| — 3 heures | 7,50 | 7,65 | 7,38 |
| — 4 heures | 7,50 | 7,53 | 7,16 |
| — 5 heures | 7,60 | 7,53 | 7,16 |
| — 6 heures | 7,70 | 7,60 | 7,38 |
| — 7 heures | 7,73 | 7,73 | 7,53 |
| — 8 heures | 7,80 | 7,73 | 7,73 |
| — 9 heures | 7,85 | 7,80 | 7,90 |
| — 10 heures | 7,90 | 7,80 | 8,1 |
| — 11 heures | 7,95 | 7,85 | 8,2 |
| — 12 heures | 8,04 | 7,90 | 8,2 |
| — 13 heures | 8,33 | 7,95 | 8,33 |
| — 15 heures | 8,40 | 8,04 | 8,33 |

Les toxines α et β ont été obtenues avec le bacille de l'Institut Pasteur, la culture γ avec notre souche. Afin de pouvoir procéder à des déterminations uniformes, nous avons institué une série spéciale de cultures dans de petits récipients du même modèle (Erlenmeyer) que ceux que nous employons dans

la pratique, mais ne contenant que 100 cent. cubes de bouillon, et chaque titrage était fait sur le mélange de trois échantillons.

Il est intéressant de remarquer la différence entre les toxines produites par le bacille qui nous avait été fourni par l'Institut Pasteur (désigné dans le tableau sous le nom de bacille de l'Institut Pasteur) et celles qui ont été fournies par notre propre bacille (bacille de Copenhague), tous les deux étant la souche américaine : Park-Williams n° 8.

Le premier a été cultivé et réensemencé tous les deux jours, pendant des années, sur le milieu Martin, tandis que l'autre est habitué au bouillon à la peptone de Witte, dont nous nous sommes servi auparavant pour la préparation des toxines. Nous employons maintenant exclusivement, depuis déjà plus d'un an, le bouillon Martin, pour la production de la toxine diphtérique et, jusqu'à présent, nos résultats sont restés excellents. Dès le commencement de ces recherches, nous avons cultivé notre bacille sur le milieu Martin pour essayer s'il serait possible de le rendre aussi toxigène que l'autre. Il semble, en effet, quand on embrasse l'ensemble des expériences, que sa fonction toxigène se soit améliorée progressivement. Lors du premier essai de toxine, comme nous venons de le dire, la dose minima mortelle fut de 0 c. c. 014, elle était de 0,006 pour le second essai, de 0,0035 pour le troisième; pour les toxines dernièrement préparées elle oscille entre 0,0017 et 0,0015; dans l'ensemble, la moyenne des résultats reste encore un peu inférieure aux autres.

Il faut bien admettre que ces expériences ne sont pas encore assez nombreuses pour que l'on puisse en tirer des conclusions solides; toutefois, nous inclinons à admettre une accoutumance au milieu ou, plus proprement dit, une amélioration de la fonction toxigène du bacille, conséquence de fréquents repiquages (il a été repiqué bi-quotidiennement) sur un milieu de composition très constante, et il nous semble que, pour bien pouvoir juger de la valeur d'un milieu ou de la fonction toxigène d'un bacille, il soit nécessaire de cultiver d'abord le bacille sur le milieu en question pendant au moins quelques mois, ou bien, ce qui est encore à préférer, d'instituer simultanément deux séries d'expériences exécutées : d'une part, avec le microbe déjà

habitué au milieu et, d'autre part, avec un autre qu'on cherche à accoutumer.

Il nous semble que ce point particulier n'a pas assez retenu l'attention des spécialistes. Bien souvent, il arrive qu'un Institut, se trouvant dans une période difficile en ce qui concerne la production des toxines, emprunte à un autre Institut un bacille « très toxigène » et qu'il reste cependant très désappointé après quelques essais. Il en est de même avec un nouveau milieu. Nous mentionnerons brièvement une expérience faite avec le milieu de Douglas, qui est préparé avec de la viande de cheval et de l'extrait pancréatique. D'après les recherches de Percival Hartley, ce milieu a fourni de bonnes toxines (inférieures cependant et de pouvoir moins constant que celles dont nous venons de parler). L'essai que nous fîmes avec ce milieu nous donna une toxine pour laquelle la dose minima mortelle fut de 0 c.c. 01. Nous aurions eu tout à fait tort si, après cette expérience, nous avions exprimé une opinion défavorable à l'égard du milieu de Douglas, absolument comme si nous avions jugé le bouillon Martin d'après notre premier essai. Il était intéressant d'essayer si on pourrait réussir à unifier toute une série de souches différentes de bacille diphtérique en les cultivant pendant longtemps sur le même milieu. Tel est le but de nos recherches ultérieures.

Le voile développé sur le milieu Martin présente un autre aspect que celui qui caractérise le voile développé sur notre milieu ordinaire. Le premier est plus mince, discontinu et des fragments tombent facilement dans le bouillon, cédant ainsi la place à de nouvelles zones qui renaissent rapidement à leur tour. En revanche, sur notre milieu, les voiles sont plus épais, dépourvus de solutions de continuité, ils couvrent toute la surface du liquide et conservent toute leur étendue et leur épaisseur jusqu'au moment de la récolte.

Nous avons fait une observation assez curieuse au cours du travail sur les deux bacilles au sujet de leur culture sur gélose. Le bacille de l'Institut Pasteur pousse fortement sur gélose, et surtout sur gélose-ascite, même à la température du laboratoire (ce qui est un phénomène assez rarement observé pour le bacille diphtérique); le nôtre, en revanche, ne pousse que très difficilement sur ces deux milieux et trois à quatre repiquages

suffisent pour qu'il refuse totalement à s'y développer. Les essais d'accoutumance sont restés infructueux.

Nous pouvons résumer maintenant les résultats de nos expériences :

1° Le milieu Martin nous a fourni des toxines à peu près deux fois plus fortes que le milieu employé auparavant;

2° La toxine formée est plus riche en floculines; elle est claire, presque incolore, ce qui est un grand avantage pour pratiquer la réaction de flocculation. On peut, dans cette toxine, distinguer sans difficulté la faible trace d'opacité qui caractérise toujours les tubes au moment qui précède immédiatement la flocculation;

3° Ce milieu est meilleur marché que celui dont nous nous servions antérieurement. La peptone obtenue à partir des estomacs de pores coûte dix fois moins cher que la même quantité de peptone commerciale (par exemple la peptone de Witte); la quantité de viande n'est que la moitié de celle qui entre dans la composition des autres milieux;

4° Les variations du pouvoir toxique et flocculant varient peu d'une préparation à l'autre. Les toxines obtenues possèdent un pouvoir très uniforme;

5° Le pouvoir antigénique est au moins égal à celui des toxines préparées avec le bouillon à la peptone en poudre, il nous semble même qu'il est supérieur;

6° On peut toujours posséder un milieu de préparation constante, car on fait la peptone soi-même et elle peut être utilisée dès qu'elle est préparée. Par contre, s'il faut avoir recours aux peptones du commerce, on n'est nullement certain qu'on se sert chaque fois d'un produit ayant les mêmes qualités que les précédents. Il ne faut pas oublier que les peptones en poudre ont été soumises à divers processus, en particulier à la dessiccation qui peut détruire des matières labiles capables de jouer un rôle comme substances nutritives pour les bacilles.

Nous n'avons jamais ajouté de sel au bouillon. Cette addition n'est pas nécessaire et, si l'on veut employer la toxine pour le titrage *in vitro*, il est avantageux qu'elle contienne le moins possible d'électrolytes, ceux-ci ne jouant qu'un rôle défavorable dans la vitesse de la réaction, comme nous l'avons déjà montré dans un travail antérieur.

ACTION DU BACILLE DE YERSIN SUR LES PRINCIPAUX HYDROCARBONES

par R. PONS.

(Institut Pasteur de Saïgon.)

Le diagnostic de la peste et l'identification du bacille pesteux ne nécessitent pas l'étude de l'action fermentative sur les sucres; *en pratique, sa recherche est trop compliquée et inutile pour le dépistage de la peste* » (Dujardin-Beaumetz). Les autres auteurs, et Simard, dans sa thèse sur le diagnostic de la peste, ne font pas mention de ces caractères, que l'on considère en général comme négligeables.

Il faut reconnaître cependant que la recherche des réactions du bacille de Yersin sur les sucres présente un intérêt particulier: 1° quand il s'agit, pour certains coccobacilles douteux, de pousser la précision du diagnostic aussi loin que les techniques actuelles le permettent; 2° quand, en présence d'un fait nouveau, clinique ou bactériologique, l'observateur doit donner le maximum de garanties sur la détermination du germe en cause. Enfin, il est permis de se demander si l'action sur les sucres des diverses souches de bacille de Yersin ne permettrait pas de distinguer des races plus adaptées à certaines formes cliniques de la maladie: bubon, septicémie ou pneumonie.

Notre étude a porté sur 16 souches de bacilles pesteux d'origine humaine isolés par nous à Phnom-Penh et à Saïgon au cours des années 1923 et 1924.

L'identification a été pratiquée: 1° au moment de l'isolement; 2° après six mois; 3° après un an de séjour au laboratoire en milieu à l'œuf.

Toutes ces souches présentaient les caractères communs énumérés ci-après:

Elles déterminent en trois à six jours la mort du cobaye, par inoculation sur la peau légèrement scarifiée, avec production

| NUMÉRO de la souche | ORIGINE | LACTOSE | | | MALTOSE | | | MANNITE | | | SACCHAROSE | | | GLUCOSE | | |
|------------------------|-------------------------|---------------|----------------|-------------|---------------|----------------|-------------|---------------|----------------|-------------|---------------|----------------|-------------|---------------|----------------|-------------|
| | | à l'isolement | après six mois | après un an | à l'isolement | après six mois | après un an | à l'isolement | après six mois | après un an | à l'isolement | après six mois | après un an | à l'isolement | après six mois | après un an |
| 1 | Adénite, Phnom-Penh. | 0 | 0 | 0 | + | + | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | + | + | + |
| 2 | Adénite, Phnom-Penh. | 0 | 0 | 0 | + | + | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | + | + | + |
| 3 | Adénite, Phnom-Penh. | 0 | 0 | 0 | + | + | + | 0 | + | + | 0 | 0 | 0 | + | + | + |
| 4 | Septicémie, Phnom-Penh. | 0 | 0 | 0 | + | + | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | + | + | + |
| 5 | Adénite, Phnom-Penh. | 0 | 0 | 0 | + | + | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | + | + | + |
| 6 | Pneumonie, Phnom-Penh. | 0 | 0 | 0 | + | + | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | + | + | + |
| 7 | Septicémie, Phnom-Penh. | 0 | 0 | 0 | + | + | + | 0 | + | + | 0 | 0 | 0 | + | + | + |
| 8 | Parotidite, Phnom-Penh. | 0 | 0 | 0 | + | + | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | + | + | + |
| 9 | Adénite, Phnom-Penh. | 0 | 0 | 0 | + | + | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | + | + | + |
| 10 | Adénite, Saïgon. | 0 | 0 | 0 | + | + | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | + | + | + |
| 11 | Adénite, Saïgon. | 0 | 0 | 0 | + | + | + | 0 | + | + | 0 | 0 | 0 | + | + | + |
| 12 | Adénite, Saïgon. | 0 | 0 | | + | + | | + | + | | 0 | 0 | | + | + | |
| 13 | Septicémie, Saïgon. | 0 | 0 | | + | + | | + | + | | 0 | 0 | | + | + | |
| 14 | Adénite, Saïgon. | 0 | 0 | | + | + | | + | + | | 0 | 0 | | + | + | |
| 15 | Adénite, Saïgon. | 0 | | | + | | | + | | | 0 | | | + | | |
| 16 | Adénite, Saïgon. | 0 | | | + | | | + | | | 0 | | | + | | |

d'une adénite et, dans de très nombreux cas, d'abcès miliaries de la rate. Chez les animaux autopsiés, on note la présence, dans les organes lymphatiques surtout, de nombreux cocco-

bacilles immobiles, Gram négatifs, en navettes plus ou moins étirées, polymorphes, à coloration bipolaire ou plus spécialement unipolaire, non capsulés et rarement bout à bout.

L'ensemencement des organes sur gélose ordinaire donne, après trente-six heures à 30°, un semis de petites colonies claires, dont le centre est légèrement opaque. En bouillon ordinaire, après trois jours, la culture montre en surface un pseudo-voile qui, à la moindre agitation, tombe, dans le milieu resté clair, en flocons suivis de traînées nuageuses caractéristiques. L'amas en surface se reproduit après quarante-huit heures. En bouillon, les germes sont groupés en courtes chaînettes.

Parmi ces souches, quatre ont été isolées chez les malades, trois fois en hémoculture et une fois des expectorations. Dans ces trois cas, le décès a permis de confirmer *post mortem* le diagnostic et a donné lieu à un nouvel isolement du bacille de Yersin. Les autres souches proviennent de cadavres. Le prélèvement a été fait dix fois dans des ganglions et, pour deux cas, dans la pulpe hépatique.

L'isolement a été obtenu, soit directement en partant du matériel humain, soit par ensemencement de la rate des cobayes inoculés.

Les milieux sucrés utilisés ont été vérifiés par ensemencement préalable de nombreuses souches microbiennes de l'Institut Pasteur de Paris, à réactions fermentatives parfaitement définies (méthode de Castellani). Nos observations sont résumées dans le tableau précédent (p. 885).

CONCLUSIONS.

En Cochinchine et au Cambodge, les résultats nous paraissent suffisamment comparables pour conclure que le bacille de Yersin :

- 1° Ne fait jamais fermenter le lactose et la saccharose ;
- 2° Fait toujours fermenter, sans donner de gaz, le maltose et le glucose ;
- 3° Fait virer la gélose mannitée, sans dégagement de gaz, dans les deux tiers des cas, aussitôt après l'isolement, et, dans tous les cas, après six mois de conservation en milieu à l'œuf.

Puisqu'il est admis, d'une façon à peu près générale, que les germes susceptibles d'être classés dans le groupe des *Pasteurella* ne font pas fermenter le lactose, tandis qu'ils acidifient les milieux saccharosés, le bacille de Yersin se distingue des autres *Pasteurella* par l'absence d'action fermentative sur le saccharose.

DE LA CUTIVACCINATION ET DE LA CUTI-IMMUNITÉ DANS LE CHARBON

par A. P. NEWODOFF

en collaboration avec WEINTROB, PINOUS, WLADIMIRSKI, ANFILOFF et FROLOFF.

L'immunité anticharbonneuse peut-elle être réalisée chez les chevaux et les bovidés par la vaccination de la peau seulement?

Une expérience préliminaire devait renseigner sur les caractères des réactions consécutives à la cutivaccination.

5 juillet 1924 : Une jument « Dounia » est frictionnée avec du premier vaccin Cienkovsky au niveau d'une excoriation cutanée, pratiquée au tiers moyen de l'encolure ; la friction dure deux à trois minutes ; on évalue à 0 c. c. 5 à 1 cent. cube la quantité de vaccin utilisé.

Deux à trois heures après, il se forme un œdème chaud, diffus, plat, douloureux à la pression, occupant toute la zone excoriée. L'œdème est résorbé vingt-quatre heures après. La température reste normale.

8 juillet 1924 : Deuxième vaccin Cienkovsky, inoculé dans les mêmes conditions. Réaction nulle.

La jument ayant succombé (27 juillet) à une gastro-entérite chronique, on recommence l'expérience sur quatre chevaux auxquels on injecte *dans la peau* 1 cent. cube de premier vaccin ; celui-ci est représenté par une culture en bouillon, âgée de vingt-quatre heures (Voir le tableau I).

A la suite de ces injections intracutanées de vaccin, il a été donc constaté une tuméfaction limitée (6 centimètres de diamètre au maximum), qui s'était résorbée au bout de deux à trois jours, sans élévation de la température.

*
* *

L'innocuité de la cutivaccination ayant été de la sorte établie, on procéda à l'expérience portant sur trois chevaux : « Apostol », « Dobriak » et « Naïvni ».

2 mars 1925 : « Dobriak » reçoit *dans* la peau 2 c. c. 5 de premier vaccin sporulé Cienkovsky.

« Naïvni » reçoit *dans* la peau 2 cent. cubes de même vaccin.

7 mars 1925 : « Dobriak » reçoit *dans* la peau 0 c. c. 5 de deuxième vaccin.

« Naïvni » reçoit *dans* la peau 0 c. c. 7 de deuxième vaccin.

24 mars 1925 : Les deux chevaux « Dobriak » et « Naïvni », ainsi qu'un troisième cheval « Apostol », lequel fut cutivacciné huit mois auparavant par une seule injection de premier vaccin, sont soumis à l'inoculation d'épreuve : on leur inocule *dans la peau* 0 c. c. 1 de mélange de bactériidies virulentes en bouillon, âgées de vingt-quatre heures.

A défaut d'un cheval neuf, pouvant servir de témoin, on inocule 1/100.000 de cent. cube de la même culture de bactériidies à un lapin. Au troisième jour ce lapin meurt de charbon.

(Ce virus inoculé ultérieurement à un cheval neuf se montra meurtrier pour ce dernier) [Voir le tableau II].

Comme il ressort du tableau II, les trois chevaux cutivaccinés, soumis à l'inoculation d'épreuve avec le virus charbonneux, ne présentèrent pas de réaction appréciable. Fait intéressant, le cheval « Apostol » avait été vacciné huit mois auparavant et il n'avait reçu à l'époque que du premier vaccin.

Huit jours après cette inoculation, deux de ces chevaux (« Apostol et Naïvni ») subirent une nouvelle épreuve, beaucoup plus sévère que la première, cette fois-ci *par la voie sous-cutanée* : « Apostol » reçut sous la peau 5 cent. cubes de culture mixte de virus en bouillon, âgée de quarante-huit heures et « Naïvni » 10 cent. cubes de cette même culture (Voir le tableau III).

Il résulte de cette expérience que la cutivaccination confère aux chevaux l'immunité vis-à-vis du virus charbonneux que celui-ci soit inoculé dans la peau ou sous la peau.

* *

La cutivaccination confère-t-elle l'immunité vis-à-vis du virus inoculé par voie buccale?

L'expérience devant fixer à cet égard a porté sur trois vaches et deux chevaux (Voir pour les détails le tableau IV).

La conclusion qui se dégage de cette expérience est qu'en vaccinant les vaches et les chevaux par la voie cutanée on les protège contre la contamination charbonneuse par la voie buccale.

*
* *

A la suite de ces expériences, l'Institut Vétérinaire de Kieff nomma une Commission, composée des professeurs Nestchadimenko, Savitzki, Kalkatine, Karsounski, ayant pour objet de contrôler l'état d'immunité des quatre chevaux cutivaccinés « Deriouga », « Mascarade », « Kobtchik », « Delevod ».

Chacun de ces quatre chevaux a été inoculé sous la peau avec 10 cent. cubes de virus charbonneux.

Deux chevaux, devant servir de témoins (« Baoul » et « Pomade »), ont reçu, en même temps que les autres, des doses notablement plus faibles de virus : le premier, 2 c.c. 5, le deuxième, seulement 0 c.c. 2.

Voici quel fut le résultat de cette expérience : les quatre chevaux cutivaccinés avaient présenté de l'œdème au niveau de la zone injectée et une élévation de la température de 0,5 à 1,5°. Quant aux chevaux témoins, tous les deux sont morts de charbon : un au bout de quatre jours l'autre au bout de neuf jours.

A la suite de cette expérience, il fut décidé d'introduire le procédé de la cutivaccination dans la pratique vétérinaire. Les premiers essais ont porté sur 2.450 bovidés et 213 chevaux. Ils ne furent suivis d'aucune complication. Parmi les non vaccinés, il y eut plusieurs cas de charbon mortel.

*
* *

La peau est-elle le seul organe réceptif vis-à-vis du virus charbonneux?

Un jeune cheval, âgé de un an et demi, reçoit dans la veine jugulaire une demi-culture de virus charbonneux sur gélose, âgée de quarante-huit heures. L'injection est faite de façon à ne pas souiller la peau. On commence par introduire dans la veine une grosse canule courte, puis à travers celle-ci une aiguille, longue et fine, que l'on adapte à la seringue. Dès que l'inoculation est terminée, on fait passer l'eau physiologique par l'aiguille, puis par la grosse canule.

Le cheval ainsi inoculé demeura indemne.

| NOM de l'animal | DATE de la vaccination | RÉACTIONS consécutives à la vaccination | INTERVALLE entre la vaccination et l'épreuve | DOSE DE VIRUS |
|--------------------------|--|--|---|---|
| 1. Dobriak. | 2 mars : premier vaccin Cienkovsky (sur gélose) 2 c. c. 5. 7 mars : deuxième vaccin Cienkovsky 0 c. c. 5. | Pas de réaction thermique. Au niveau de l'injection, œdème 4×6, résorbé en deux jours. Pas de réaction. | 17 jours. | 0,1 de mélange de tr virus, dont deux tuai le lapin à 1/1.000 ^e cent. cube et un la dose de 1/100.000 ^e culture en bouillon |
| 2. Naïvni. | 2 mars : premier vaccin 2 cent. cubes. 7 mars : deuxième vaccin 0 c. c. 7. | Pas de réaction. | 17 jours. | 0,1 de mélange de tr virus, dont deux tuai le lapin à 1/1.000 ^e cent. cube et un la dose de 1/100.000 ^e culture en bouillon |
| 3. Apostol. | 22 juillet 1924 : premier vaccin non sporulé, 1 cent. cube. | Œdème de 6 centimètres se résorbe en trois jours. Pas d'élévation de la température. | 8 mois. | 0,1 de mélange de tr virus, dont deux tuai le lapin à 1/1.000 ^e cent. cube et un la dose de 1/100.000 ^e culture en bouillon |
| 4. Lapin (2.900 gr.). | Non vacciné, témoin. | | | 0 c. c. 00001 de mélange de trois virus, culture en bouillon. |

| NOM DU CHEVAL | TEMPÉRATURE avant l'injection | 1 ^{er} AVRIL | | | | | | |
|--|----------------------------------|-------------------------------|------|------|------|-------|-------|-------|
| | | Température après l'injection | | | | | | 14 h. |
| | | 2 h. | 4 h. | 6 h. | 8 h. | 10 h. | 12 h. | |
| 1. Naïvni. 1 ^{er} avril à 3 heures sous la peau, 10 cent. cubes de virus. | 1 ^{er} avril : 37,4. | 37,2 | 37,5 | 37,5 | 38,2 | 38,2 | 38,5 | 39,1 |
| 2. Apostol. 1 ^{er} avril à 3 heures sous la peau, 5 cent. cubes de virus. | 1 ^{er} avril : 37,5. | 37,5 | 37,5 | 37,7 | 38,2 | 38,7 | 39,3 | 38,9 |

CUTIVACCINATION ET CUTI-IMMUNITÉ DANS LE CHARBON 893

| RÉSULTATS DE L'ÉPREUVE | | | | | | | | | | RÉACTIONS LOCALES | OBSERVATIONS GÉNÉRALES |
|---------------------------------|------|------------|------|------------|------|------------|------|------------|------|--|--|
| juillet | | 25 juillet | | 26 juillet | | 27 juillet | | 28 juillet | | | |
| | s. | m. | s. | m. | s. | m. | s. | m. | s. | | |
| 2 | 37,2 | 37,7 | 37,6 | 37,4 | 37,6 | 37,4 | 37,7 | 37,2 | 37,6 | 25 mars : œdème douloureux de dimensions d'une noix; résorbé le 28 mars. 27 mars : écoulement séro-muqueux des naux; 28 mars disparu. | La température est restée normale. Pas de charbon. |
| 4 | 38,3 | 38,0 | | 37,6 | | | | | | 25 mars : œdème douloureux 8×8; 27 mars commence à se résorber; léger écoulement. 28 mars disparu. | Pas de charbon. |
| 6 | 37,8 | 37,8 | | 37,6 | | | | | | | Pas de charbon. |
| Mort après soixante-dix heures. | | | | | | | | | | | Le sang du cœur donne une culture de bactérie. |

| 1 AVRIL | | 3 AVRIL | | 4 AVRIL | | 5 AVRIL | | 6 AVRIL | | OBSERVATIONS GÉNÉRALES |
|---------|------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|--|------------------------|
| s. | m. | s. | m. | s. | m. | s. | m. | s. | | |
| 39,9 | 39,0 | 39,9 | 38,5 | 37,2 | 37,4 | 37,5 | 37,5 | 37,7 | La température a commencé à s'élever huit-dix heures après l'inoculation du virus; est revenue à la normale après trois jours. L'œdème gros comme une petite noix s'est résorbé après six jours. Pas de charbon. | |
| 40,8 | 41,9 | 40,8 | 40,1 | 40,4 | 40,1 | 40,4 | 39,0 | 39,7 | La température commence à s'élever vers la huitième heure; les jours suivants fortes oscillations jusqu'au 7 avril. OEdème au niveau de l'inoculation jusqu'au 5 avril. Pas de charbon. Exacerbation des symptômes de la morve. 4 avril : Tuméfaction douloureuse des ganglions sous-maxillaires et des bourses. | |

| NOM de l'animal | DATE ET MODE de vaccination | RÉACTION après le premier vaccin | RÉACTION après le deuxième vaccin | DATE DE L'ÉPREUVE de l'immunité |
|---------------------------------------|---|--|---|--|
| 1. Vache « Zorka ». | Cutivaccinée deux fois à quatorze jours l'intervalle. Premier vaccin : 1 cent. cube; deuxième vaccin : 0 c. c. 5. | OEdème insignifiant à l'endroit de l'injecti- on; la température s'est élevée de 0,5. | Ni réaction ther- mique, ni lo- cale, ni géné- rale. | Onze jours après la deuxième vaccina- tion. |
| 2. Génisse âgée de quatre mois. | Comme n° 1. | OEdème insignifiant à l'endroit de l'injecti- on; la température s'est élevée de 0,5. | Ni réaction ther- mique, ni lo- cale, ni géné- rale. | Onze jours après deuxième vaccina- tion. |
| 3. Cheval « Naïvni ». | Comme n° 1. intervalle de cinq jours. | La température est res- tée normale; œdème de 4 × 6, s'est résorbé en deux jours. | Pas de réaction. | Dix-sept jours après le deuxième vaccin. inoculation de 0 c. c. de virus dans la peau; pas de réac- tion. 1 ^{er} avril : 10 cent. cube de virus, pas de réac- tion. |
| 4. Vache « Laska ». | Voir n° 1. | Voir n° 1. | Voir n° 1. | Voir n° 1. |
| 5. Veau âgée de trois mois. | Non vacciné (té- moin). | — | — | — |
| 6. Cheval « Dergolo ». | 25 avril : injection dans la peau de 1 cent. cube de premier vaccin Cienkovskien en un seul point. | Elévation durable de la température, dès le lendemain, augmen- tation des glandes sous-maxillaires et ulcération dans la ca- vité nasale; exacer- bation de la morve. | Pas de deuxième vaccin. | Treize jours après un unique cutivaccin- ation (de premier va- cin). |

CONCLUSIONS.

La cutivaccination s'accompagne, après la première injection, d'un œdème insignifiant, d'une élévation de la température dépassant rarement un degré, et d'une diminution de lait chez

| COMMENT ET QUAND l'épreuve fut effectuée | RÉSULTATS DE L'ÉPREUVE | CONCLUSIONS |
|--|--|---|
| 9 avril : ingestion de deux cultures sur gélose plus du verre pilé. | Pas de réaction. | A la suite de la cutivaccination en deux fois la vache a résisté à l'inoculation <i>per os</i> . |
| 9 avril : scarification d'une zone de la muqueuse intestinale; friction avec virus après que l'intestin a été débarrassé de matières. | La zone devenue rouge a repris son aspect normal après dix-huit heures. Pas d'autre réaction. | A la suite de la cutivaccination la génisse a résisté à l'inoculation dans la muqueuse intestinale après scarification. |
| 9 avril : ingestion d'une culture sur gélose âgée de un jour et de 8 cent. cubes de culture en bouillon; après quatre heures : nombreux traumatismes (opération de rajeunissement d'après Voronoff). | Après la première épreuve, réaction nulle; après la deuxième épreuve, la température s'élève de 2°5; pas d'autres réactions. Après la troisième épreuve faite <i>per os</i> , pas de réaction du tout. | A la suite de la cutivaccination a résisté aux inoculations dans la peau, sous la peau et <i>per os</i> , cette dernière accompagnée de lésions multiples de la peau. |
| 9 avril : inoculation dans la peau de 10 cent. cubes de virus en bouillon, âgé de vingt-quatre heures. | Pas de réaction. L'œdème s'est résorbé vers le septième jour. | A la suite de la cutivaccination a résisté à l'inoculation dans la peau de 10 cent. cubes de virus. |
| 9 avril : inoculation de 0 c. c. 2 de virus en bouillon, âgé de vingt-quatre heures. | Le lendemain la température atteint 41°9; œdème 15 × 10. Le troisième jour, mort; sur frottis du sang et du foie des bactéries. | Témoin mort de charbon. |
| mai : inoculation dans la peau de 20 cent. cubes de virus. | La température s'est élevée de 2°5 (jusqu'à 40°2) dès le lendemain; retour à la normale le sixième jour. Œdème 6 × 8 se résorbe le 14 mai. | A la suite d'une cutivaccination unique (premier vaccin) a résisté à l'inoculation de 20 cent. cubes de virus sous la peau. |

les vaches. Les phénomènes réactionnels font défaut après l'injection du deuxième vaccin.

L'intervalle entre le premier et le deuxième vaccin peut varier de trois à quatorze jours. Sa durée importe peu, pourvu que le deuxième vaccin soit injecté après la disparition des phénomènes provoqués par le premier.

La vaccination unique semble suffisante; l'immunité ainsi créée fut constatée au bout de huit mois.

L'application du vaccin sur la peau scarifiée ainsi que la friction exercée sur la peau rasée ou épilée, paraissent donner des résultats équivalents à ceux que l'on obtient par l'injection de vaccin dans l'épaisseur du derme.

La dose de 0 c. c. 5 de virus charbonneux, administrée *per os* sans lésion préalable de la muqueuse, à un veau de trois mois, fut incapable de donner la maladie.

Une demi-culture de virus sur gélose, inoculée à un cheval dans les veines, sans lésion de la peau, ne fut suivie d'aucun symptôme morbide.

Chez les chevaux et les vaches, la cutivaccination crée une immunité solide contre l'inoculation du virus dans la peau ou sous la peau. Elle protège contre la contamination par la voie buccale, alors même qu'il y a concomitamment une lésion de la peau ou des muqueuses.

L'immunité a été constatée onze jours après la vaccination; il y a lieu de croire qu'elle apparaît d'une façon encore plus précoce.

Etant donné les avantages multiples de la cutivaccination, il y a lieu de l'adopter dans la pratique vétérinaire courante.

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LE CHARBON

par le Dr CHARLES HRUSKA,
Institut sérothérapique vétérinaire à Ivanovice, Tchécoslovaquie.

(PREMIER MÉMOIRE)

Les vaccins charbonneux.

Malgré les observations si remarquables et si précises de Pasteur, on est loin d'être fixé sur la virulence des virus charbonneux atténués. Au cours de nos recherches sur la vaccination charbonneuse, nous avons eu l'occasion d'étudier plusieurs échantillons de premier et de deuxième vaccin charbonneux, gracieusement offerts par M. Truche, de l'Institut Pasteur. Nous nous sommes proposé, d'une part, d'observer les effets que ces échantillons, cultivés en séries sur gélose, dans le bouillon ordinaire, dans l'eau physiologique et d'après notre procédé, produisent sur l'organisme des animaux et, d'autre part, leur retour à la virulence et le degré de celle-ci.

Pasteur, dans un travail fait en collaboration avec Roux et Chamberland, dit (1) : « Le secret de ces retours à la virulence est tout entier, présentement, dans des cultures successives dans le corps de certains animaux. Il dit, en outre, que la bactériémie, inoffensive pour les cobayes, ne l'est pas à tous les âges de ces animaux, mais que la période de la virulence est brève. Un cobaye de plusieurs années d'âge, d'un an, de six mois, d'un mois, de quelques semaines, de huit jours, de sept, de six jours, ou même moins, ne court aucun danger de maladie et de mort par l'inoculation de la bactériémie affaiblie dont il s'agit ; celle-ci, au contraire, tout surprenant que paraisse ce résultat, tue le cobaye d'un jour. Il n'y a pas eu

(1) *C. R. de l'Académie des Sciences*, 1881, p. 429.

encore d'exception sur ce point dans nos expériences. Si l'on passe alors d'un premier cobaye d'un jour à un autre par inoculation du sang du premier au second, de celui-ci à un troisième, et ainsi de suite, on renforce progressivement la virulence de la bactériémie, en d'autres termes, son accoutumance à se développer dans l'économie. Bientôt, par suite, on peut tuer les cobayes de trois et de quatre jours, d'une semaine, d'un mois, de plusieurs années, enfin les moutons eux-mêmes. La bactériémie est revenue à sa virulence d'origine. »

TECHNIQUE.

Nos expériences ont été effectuées avec des cultures du 1^{er} au 255^e passage sur la gélose ordinaire inclinée. Les cultures étaient repiquées chaque semaine de 1920 à 1925, et conservées à la température de la chambre. Nous n'avons pu constater au cours des recherches aucune modification dans les caractères morphologiques des échantillons employés. Notons seulement que le premier comme le deuxième vaccin, cultivés sur gélose, produisent des spores entre le dixième et le quinzième jour ; les bâtonnets charbonneux sont à ce moment très rares. Dans le bouillon nous n'avons jamais constaté la présence des spores, même après quatre mois, mais seulement des formes d'invololution. Nous avons eu soin de prendre pour chaque expérience une culture de dix-huit à vingt-quatre heures sur gélose. En nous servant toujours de la même quantité de semence, nous préparions une culture en bouillon. Celle-ci restait à l'étuve (37°) de dix-huit à vingt-quatre heures. Le vaccin en bouillon était ensuite réparti en plusieurs flacons scellés et conservé pendant plusieurs années à la température de la chambre, à l'abri de la lumière.

Pour conserver les souches dans l'eau physiologique, on a recueilli la culture sur gélose en faisant une émulsion très épaisse dans l'eau physiologique. L'eau physiologique était ensuite conservée dans des flacons scellés. Enfin nous avons choisi une méthode conservatrice qui est la suivante : nous nous sommes servi des flacons à l'émeri, avec tige en verre soudée au bouchon, que l'on utilise dans la parfumerie et qui sont faciles à stériliser. Ces flacons, une fois stérilisés, on dépose

une partie de la culture recueillie sur la gélose à l'extrémité de la tige de verre et on paraffine le bouchon. La conservation se fait ensuite comme pour les flacons de bouillon et d'eau physiologique.

Les expériences ont été effectuées sur plusieurs milliers d'animaux de laboratoire. L'infection a été faite toujours par la voie sous-cutanée.

EXPÉRIENCES AVEC LE PREMIER VACCIN.

A. Quatrième passage sur gélose.

| DATE de l'infection | DOSE en cent. cubes | ANIMAUX employés | POIDS en grammes | DATE de la mort | OBSERVATIONS |
|------------------------|---------------------------|---------------------|------------------------|----------------------|---------------------|
| 9 déc. 1920 . . | 0,2 | Souris. Cobaye. | » 310 | 11 déc. 1920. » | Charbon. Survit. |
| 16 déc. 1920 . . | 0,2 | Souris. Cobaye. | » 420 | 18 déc. 1920. » | Charbon. Survit. |
| 23 déc. 1920 . . | 0,2 | Souris. Cobaye. | » 360 | 26 déc. 1920. » | Charbon. Survit. |
| 3 janvier 1921. | 0,2 | Souris. Cobaye. | » 380 | 7 janvier 1921. » | Charbon. Survit. |
| 19 janvier 1921. | 0,2 | Souris. Cobaye. | » 430 | » » | Survit. Survit. |

Il ressort de ce tableau que la virulence du premier vaccin est restée constante et que la vitalité du premier vaccin en bouillon ne dépasse pas quatre semaines à deux mois. Nous avons obtenu des résultats semblables dans plusieurs expériences.

B. Passage du premier vaccin par la souris.

Le vaccin du premier passage a étéensemencé en bouillon et celui-ci a servi aux épreuves ci-après :

| DATE de l'infection | DOSE en cent. cubes | ANIMAUX employés | POIDS en grammes | DATE de la mort | OBSERVATIONS |
|------------------------|---------------------------|---------------------|------------------------|-----------------------|---------------------|
| 18 déc. 1920 . . | 0,2 | Souris. Cobaye. | » 570 | 20 déc. 1920. » | Charbon. Survit. |
| 29 déc. 1920 . . | 0,2 | Souris. Cobaye. | » 510 | 30 déc. 1920. » | Charbon. Survit. |
| 19 janvier 1921. | 0,2 | Souris. Cobaye. | » 520 | 21 janvier 1921. » | Charbon. Survit. |

Nous n'avons d'ailleurs jamais réussi à augmenter la virulence du premier vaccin par des passages chez la souris. Nous avons pu nous en assurer dans de très nombreuses expériences.

C. Huitième passage sur gélose.

Le huitième passage est ensemencé en bouillon, et cette culture sert aux épreuves :

| DATE de l'infection | DOSE en cent. cubes | ANIMAUX employés | POIDS en grammes | DATE de la mort | OBSERVATIONS |
|--------------------------------|---------------------------|------------------------------|------------------------|---|---------------------------------|
| 1 ^{er} janvier 1921 . | 0,2 | Souris. Cobaye. Lapin. | » 470 1.570 | 2 janvier 1921. 4 janvier 1921. » | Charbon. Charbon. Survit. |
| 19 janvier 1921 . | 0,2 | Souris. Cobaye. Lapin. | » 450 2.440 | 21 janvier 1921. 23 janvier 1921. » | Charbon. Charbon. Survit. |
| 29 janvier 1921 . | 0,2 | Souris. Cobaye. Lapin. | » 370 1.520 | 1 ^{er} février 1921. » » | Charbon. Survit. Survit. |
| 17 février 1921 . | 0,2 | Souris. Cobaye. Lapin. | » 340 1.720 | 22 février 1921. » » | Charbon. Survit. Survit. |

De ce tableau il résulte que le premier vaccin, après huit passages successifs sur gélose, est devenu mortel pour les

cobayes dans un plus grand pourcentage qu'au commencement.

D. Expériences avec le premier vaccin qui avait passé par l'organisme du cobaye et de la souris dans la série précédente C.

| DATE de l'infection | DOSE en cent. cubes | ANIMAUX employés | POIDS en grammes | DATE de la mort | OBSERVATIONS |
|------------------------|---------------------------|------------------------------|------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| 18 janvier 1921. | 0,2 | Souris. Cobaye. Lapin. | » 400 860 | 21 janvier 1921. » » | Charbon. Survit. Survit. |
| 3 février 1921. . | 0,2 | Souris. Cobaye. Lapin. | » 380 2.980 | 4 février 1921. » » | Charbon. Survit. Survit. |
| 21 janvier 1921. | 0,2 | Souris. Cobaye. Lapin. | » 350 2.770 | 25 février 1921. » » | Charbon. Survit. Survit. |
| 3 mars 1921 . . | 0,2 | Souris. Cobaye. Lapin. | » 440 2.870 | » » » | Survit. Survit. Survit. |

De cette expérience, il résulte que le premier vaccin, quoique devenu mortel pour les cobayes, dans la série précédente, n'a pas subi de changement de virulence après avoir séjourné dans l'organisme de la souris et du cobaye.

Pour compléter les constatations, nous avons utilisé dans nos expériences sur le premier vaccin, après passage sur gélose, des lapins de faible poids, de 400 à 600 grammes.

Les lapins ont aussi succombé à l'infection du premier vaccin devenu mortel pour les cobayes.

Ayant constaté les accroissements de la virulence après les passages sur gélose, il faut faire la remarque suivante : après avoir reçu le premier vaccin, nous avons observé que la culture sur gélose, par les repiquages, est devenue plus humide et plus épaisse. En conséquence, la culture en bouillon est devenue aussi plus trouble qu'on ne le constate en général pour le premier vaccin.

E. Voici le tableau indiquant l'accroissement de la virulence du premier vaccin après les passages sur gélose.

| DATE de l'infection | DOSE en cent. cubes | ANIMAUX employés | POIDS en grammes | DATE de la mort | OBSERVATIONS |
|---------------------|---------------------|------------------|------------------|------------------|--------------|
| 2 février 1922. | 0,2 | Souris. | » | 4 février 1922. | Charbon. |
| | | Cobaye. | 280 | 5 février 1922. | Charbon. |
| | | Lapin. | 480 | » | Survit. |
| 2 février 1922. | 0,5 | Souris. | » | 3 février 1922. | Charbon. |
| | | Cobaye. | 290 | 6 février 1922. | Charbon. |
| | | Lapin. | 510 | 8 février 1922. | Charbon. |
| 2 février 1922. | 1 | Souris. | » | 4 février 1922. | Charbon. |
| | | Cobaye. | 290 | 5 février 1922. | Charbon. |
| | | Lapin. | 500 | 7 février 1922. | Charbon. |
| 23 février 1922. | 0,2 | Souris. | » | 26 février 1922. | Charbon. |
| | | Cobaye. | 280 | 27 février 1922. | Charbon. |
| | | Lapin. | 610 | » | Survit. |
| 23 février 1922. | 0,5 | Souris. | » | 28 février 1922. | Charbon. |
| | | Cobaye. | 330 | 27 février 1922. | Charbon. |
| | | Lapin. | 720 | » | Survit. |
| 23 février 1922. | 1 | Souris. | » | 25 février 1922. | Charbon. |
| | | Cobaye. | 270 | 27 février 1922. | Charbon. |
| | | Lapin. | 480 | » | Survit. |

Pour nous rendre compte de la façon dont les moutons et les grands animaux réagissent à l'infection du premier vaccin devenu mortel pour les cobayes, nous l'avons inoculé à 11 moutons et à 500 bœufs. L'examen des températures prises plusieurs jours de suite nous montre que les moutons ont manifesté, à la suite de l'injection du premier vaccin, une fièvre passagère, sans présenter aucun symptôme grave. De même chez les grands animaux, inoculés au nombre de 500.

On a constaté seulement, au niveau de la piqûre chez quelques animaux, des œdèmes qui ont persisté de trois à quinze jours.

La conclusion générale sur le premier vaccin est la suivante :

Le premier vaccin étant cultivé en séries successives sur gélose devient plus virulent pour le cobaye, presque dans la proportion de 100 p. 100, et un peu moins pour le lapin.

Les passages par les cobayes et par les lapins ne font pas augmenter la virulence du premier vaccin atténué.

Ayant inoculé la culture en bouillon de vingt-quatre heures du premier vaccin, devenu mortel pour les cobayes, à 11 moutons et à 500 bœufs, à la dose de 0 c. c. 25, nous n'avons pas constaté de mortalité.

Par conséquent, le bœuf est relativement réfractaire à la bactériodie charbonneuse.

Le rayon d'action mortelle du premier vaccin se trouve entre 100 p. 100 pour les souris et les cobayes et 5 à 10 p. 100 pour les lapins. Le premier vaccin séjournant en bouillon ordinaire devient avirulent dans les trois mois. Il en est de même dans l'eau physiologique. L'émulsion bacillaire, quoique faite très massive, ne permet pas de constater la présence de la bactériodie après deux années.

La conservation du premier vaccin « à l'état sec » dans le flacon à l'émeri avec tige en verre et paraffiné s'est montrée très bonne et supérieure à toutes les méthodes connues. Même après cinq années, nous avons pu repiquer la bactériodie dans le bouillon ou sur gélose. La virulence du premier vaccin se maintient constante pour la souris, dans la proportion de 100 p. 100, et pour le cobaye dans la proportion de 7 p. 100. La bactériodie se conserve « à l'état sec » sous la forme de bâtonnets et de spores.

Il ressort de cette étude expérimentale que le premier vaccin ne peut pas augmenter en virulence par les passages par animaux de laboratoire et non plus par les passages par les bovidés. On sait qu'il y a rarement des cas mortels après la première vaccination. Dans les cas positifs, on est placé en présence de deux alternatives.

Il s'agit :

1° de la réaction d'inoculation charbonneuse. Il se forme un œdème énorme au lieu d'inoculation, ou :

2° de l'infection naturelle à laquelle les animaux succombent étant dans la phase négative de l'immunité.

Nous constatâmes deux cas où la réaction œdémateuse s'était répandue sur le corps et avait causé la mort de l'animal. Dans les deux cas, on a isolé une bactériodie qui a manifesté la virulence affaiblie du premier vaccin, c'est-à-dire que le lapin

n'a pas succombé à l'infection. L'élimination de l'infection naturelle après l'injection du premier vaccin se fait par la méthode suivante :

On fait une dilution à 1/100^e de la culture en bouillon de vingt-quatre heures. On injecte à deux lapins 0 c. c. 2 de cette culture. S'ils s'agit du charbon virulent, les lapins succomberont à l'infection. S'il s'agit de l'infection causée par le premier vaccin, un lapin ou tous deux résistent. Il faut prendre des lapins du poids moyen de 800 grammes.

EXPÉRIENCES AVEC LE DEUXIÈME VACCIN.

F. Troisième passage sur gélose.

| DATE de l'infection | DOSE en cent. cubes | ANIMAUX employés | POIDS en grammes | DATE de la mort | OBSERVATIONS |
|------------------------|---------------------------|---------------------|------------------------|-------------------------------------|----------------------|
| 20 déc. 1920 . . | 0,2 | Cobaye. Lapin. | 250 1.600 | 23 déc. 1920. 23 déc. 1920. | Charbon. Charbon. |
| 28 déc. 1920 . . | 0,2 | Cobaye. Lapin. | 310 2.850 | 30 déc. 1920. 31 déc. 1920. | Charbon. Charbon. |
| 7 janvier 1921. . | 0,2 | Cobaye. Lapin. | 700 2.620 | 9 janvier 1921. 11 janvier 1921. | Charbon. Charbon. |
| 18 janvier 1921 . | 0,2 | Cobaye. Lapin. | 470 1.780 | 21 janvier 1921. 24 janvier 1921 | Charbon. Charbon. |

L'examen de la série F nous montre que le deuxième vaccin, après le troisième passage sur gélose, reste mortel pour la grande majorité des cobayes et des lapins. Environ 60-70 p. 100 des lapins ont succombé à l'infection charbonneuse.

Donc le deuxième vaccin, après des passages successifs sur gélose, c'est-à-dire au bout de sept mois, a subi un affaiblissement de sa virulence, quoique, morphologiquement, cet échantillon n'ait montré aucun changement. Après le 38^e passage, c'est-à-dire trois mois plus tard, nous avons constaté un affaiblissement presque total de ce deuxième vaccin ; seules les souris succombaient à l'infection. Les cobayes se sont montrés sensibles à titre tout à fait exceptionnel, comme dans le cas du premier vaccin. Nous avons pensé qu'il s'agissait là d'un affai-

G. Vingt-huitième passage successif sur gélose.

| DATE de l'infection | DOSE en cent. cubes | ANIMAUX employés | POIDS en grammes | DATE de la mort | OBSERVATIONS |
|------------------------|---------------------------|---------------------|------------------------|--------------------|---------------------------------------|
| 2 juin 1921 . . | 0,2 | Cobaye. Lapin. | 340 2.110 | 6 juin 1921. » | Charbon. Survit. |
| 10 juin 1921 . . | 0,2 | Cobaye. Lapin. | 280 2.470 | » 27 juin 1921. | Survit. Cachexie, sans charbon. |
| 18 juin 1921 . . | 0,2 | Cobaye. Lapin. | 440 2.980 | 23 juin 1921. » | Charbon. Survit. |
| 28 juin 1921 . . | 0,2 | Cobaye. Lapin. | 280 2.600 | » » | Survit. Survit. |

blissement définitif de la virulence, et nous nous sommes demandé s'il n'était pas possible d'augmenter la virulence du virus en le faisant passer par la souris. Nous donnons ci-dessous les résultats.

H. Passage du deuxième vaccin par la souris.

| DATE de l'infection | DOSE en cent. cubes | ANIMAUX employés | POIDS en grammes | DATE de la mort | OBSERVATIONS |
|------------------------|---------------------------|------------------------------|------------------------|---|-----------------------------------|
| 16 juin 1921 . . | 0,2 | Souris. Cobaye. Lapin. | » 430 2.670 | 20 juin 1921. 20 juin 1921. » | Charbon. Charbon. Survit. |
| 8 juillet 1921 . . | 0,2 | Souris. Cobaye. Lapin. | » 370 1.810 | 10 juillet 1921. 11 juillet 1921. » | Charbon. Charbon. Survit. |
| 2 août 1921. . . | 0,2 | Souris. Cobaye. Lapin. | » 340 1.800 | 4 août 1921. 6 août 1921. 22 août 1921. | Charbon. Charbon. Cachexie. |
| 8 août 1921. . . | 0,2 | Souris. Cobaye. Lapin. | » 270 1.470 | 11 août 1921. 11 août 1921. » | Charbon. Charbon. Survit. |
| 26 octobre 1921. | 0,2 | Souris. Cobaye. Lapin. | » 280 1.630 | 27 octobre 1921. 28 octobre 1921. » | Charbon. Charbon. Survit. |

L'examen de ce tableau nous montre que la virulence est effectivement augmentée après le passage par la souris. La régularité avec laquelle les cobayes succombaient à l'infection a été frappante. Fait non moins digne de remarque, la virulence du deuxième vaccin, qui au commencement de nos recherches a été si grande pour les lapins, a complètement baissé, après plusieurs repiquages sur gélose ordinaire, pour ces animaux, même choisis de faible poids. En cultivant le deuxième vaccin en série sur gélose pendant six mois, nous avons trouvé qu'il est devenu d'une virulence constante pour la souris et, exceptionnellement, pour le cobaye. En faisant passer ce vaccin par la souris, nous avons constaté une augmentation progressive de la virulence pour les cobayes et une atténuation de la virulence pour les lapins.

Et enfin, en faisant passer « les passages de la souris » par les cobayes, nous n'avons pas pu constater l'accroissement de la virulence pour les lapins.

Les expériences faites avec le deuxième vaccin conservé dans l'eau physiologique et dans le bouillon ordinaire ont été les suivantes :

Les semences enfermées dans les flacons se sont montrées virulentes après trois années. Il faut seulement noter que, dans cet état, elles ont perdu la faculté de tuer les lapins dans 70 p. 100 des cas. Les souches repiquées ont montré une virulence beaucoup moins forte qu'au commencement.

Enfin notre méthode de conservation « à l'état sec » dans les flacons s'est montrée aussi très supérieure à toutes les méthodes connues. Même après cinq années, les souches sont restées de constante virulence pour les lapins.

En résumé : le deuxième vaccin, après repiquages successifs sur gélose, devient avirulent pour les lapins et en partie pour les cobayes ; au bout de six à sept mois il ne conserve son pouvoir pathogène que vis-à-vis de la souris. Le deuxième vaccin ainsi atténué, passant par la souris, augmente de virulence seulement pour les cobayes.

La conservation dans le bouillon ordinaire et dans l'eau physiologique n'est pas recommandable.

Elle n'est possible, comme celle du premier, « qu'à l'état sec » dans des flacons à l'émeri avec tige en verre.

Nous devons remarquer qu'il est généralement admis que la plupart des lapins traités par le deuxième vaccin succombent à l'infection charbonneuse. Ce point de vue est très important parce que la durée de l'immunité après la vaccination en résulte probablement. En général, cette durée n'est que de quatre à cinq mois. Mais il y a aussi des exceptions.

Dans notre pays il y a des endroits très contaminés, où l'on peut voir éclater l'infection de huit à douze semaines après la vaccination. Pour y combattre l'infection charbonneuse, nous avons pratiqué la vaccination charbonneuse deux fois par an; elle s'est montrée parfaitement suffisante. Dans des cas très exceptionnels, nous utilisons la technique suivante :

La dose du premier et du deuxième vaccin reste de 0 c. c. 25; nous donnons, le dixième jour après la deuxième vaccination, 1 cent. cube du deuxième vaccin. Les chevaux, les bœufs et les moutons supportent cette injection sans réaction plus élevée. On a procédé de cette façon cette année, dans la Russie sous-Carpathique, au moins chez 10.000 bœufs et chevaux, sans avoir de pertes après l'inoculation. Dans les endroits très infectés, on doit se servir de la troisième vaccination, parce que l'immunité n'est pas suffisante après les deux premières.

Une question reste toujours très importante dans la distribution des vaccins : « c'est la constance de la virulence ». Par notre procédé de vaccin conservé « à l'état sec », nous sommes arrivés à une méthode très simple et dont les résultats sont excellents.

On sait qu'en Russie on se sert des vaccins de Cienkowski, dits vaccins à spores. L'Institut bactériologique vétérinaire de Charkow fait la distribution de semences pour l'usage vétérinaire. La conservation des semences se fait probablement dans la glycérine. Les prescriptions pour le deuxième vaccin données par l'Institut bactériologique de Charkow sont les suivantes :

1° Le deuxième vaccin cultivé en bouillon doit tuer les cobayes;

2° Le deuxième vaccin ne doit pas tuer le lapin d'un poids supérieur à 1.000 grammes.

Nous voyons donc que la semence Pasteur a une virulence plus grande, car elle entraîne la mort de 60-70 p. 100 des lapins

d'un poids assez élevé. On peut se persuader par l'expérience suivante que la constance exigée par l'Institut de Charkow n'existe pas dans le procédé de Cienkowski.

Pendant le mois de mars de cette année, nous avons reçu de Charkow plusieurs ampoules de premier et deuxième vaccin qui, d'après les prescriptions de l'Institut, peuvent être employées pendant deux années. En faisant la culture en bouillon, nous avons obtenu les résultats ci-après :

I. *Deuxième semence 1925*
« Institut bactériologique de Charkow ».

| DATE de l'infection | DOSE en cent. cubes | ANIMAUX employés | POIDS en grammes | DATE de la mort | OBSERVATIONS |
|------------------------|---------------------------|---------------------|------------------------|---------------------|----------------------|
| 21 avril 1925 . . | 0,2 | Lapin. Lapin. | 420 400 | 5 mai 1925. » | Cachexie. Survit. |
| 21 avril 1925 . . | 0,5 | Lapin. Lapin. | 110 690 | » 25 avril 1925. | Survit. Charbon. |
| 21 avril 1925 . . | 1,0 | Lapin. Lapin. | 119 740 | » » | Survit. Survit. |

Nous voyons, par cette expérience, que la constance de la virulence pour les échantillons envoyés de Charkow à notre Institut n'est pas aussi constante qu'on pourrait le souhaiter. La plupart des lapins, même du poids très faible de 400 grammes, sont restés vivants. Ce vaccin est beaucoup plus faible que le deuxième vaccin de Pasteur. Il est de la virulence du premier vaccin de l'origine Pasteur (voir la série E.), que nous avons impunément inoculé aux bœufs et aux moutons (on voit qu'il y a une grande différence entre les vaccins de diverses origines).

D'après nos observations, il apparaît nécessaire que le deuxième vaccin soit assez virulent, et encore l'immunité acquise après l'inoculation de celui-ci n'est-elle pas assez grande pour protéger l'organisme de l'infection dans les lieux très infectés. En pareil cas, on doit vacciner deux fois par an, ou faire une troisième vaccination en injectant 1 cent. cube du deuxième vaccin aux bovidés et aux chevaux, et 0 c.c. 5 aux moutons.

RÉACTION DES CELLULES ET PHAGOCYTOSE CHEZ LE COBAYE NORMAL ET IMMUNISÉ,

par S. MÉTALNIKOV et K. TOUMANOFF.

Nos recherches sur l'immunité des insectes ont démontré qu'à la base de l'immunité se trouve l'activité défensive des cellules (réactions, sécrétions, phagocytose, formation des cellules géantes, etc.).

Les réactions défensives des cellules peuvent se produire soit à l'extérieur de l'organisme (sur les muqueuses, sur la peau), soit à l'intérieur des organes internes (dans le sang et dans les cavités).

Les réactions externes ont lieu quand des microbes ou diverses substances excitantes rencontrent les muqueuses du nez, des yeux, de la gorge, de l'intestin, etc. Les cellules réagissent alors soit par une sécrétion glaireuse, soit par des mouvements péristaltiques, par l'éternuement, la production des larmes, etc., qui favorisent l'expulsion de ces substances.

Les réactions défensives internes sont beaucoup plus compliquées. Elles ont pour cause le passage des microbes dans le sang, dans les organes et dans les cavités internes. Tout organisme est un système harmonieux. L'introduction dans ce système d'un corps étranger, même en quantité minime, provoque toujours une réaction plus ou moins énergique de l'organisme tout entier. Ce ne sont pas seulement les cellules libres qui réagissent, mais aussi toutes les autres : les cellules des tissus conjonctifs, des vaisseaux, des glandes internes, des nerfs, etc.

C'est surtout dans les phénomènes inflammatoires que l'ensemble des réactions des cellules peut être observé. La formation et la sécrétion de différents anticorps sont aussi des manifestations de ces réactions défensives.

Nous pensons que l'immunité consiste essentiellement dans les réactions défensives des cellules qui prennent part à la des-

truction et à l'expulsion des parasites et de leurs toxines.

Pour bien comprendre le mécanisme de l'immunité, il faut étudier non seulement les produits des réactions défensives, produits qui se trouvent dans le sang et les humeurs, mais il faut encore et surtout étudier attentivement la vie et les modifications des cellules elles-mêmes : les relations des cellules entre elles, l'influence des sécrétions internes et des nerfs, le rôle des différentes cellules dans cette lutte contre les microbes et leurs toxines.

Malheureusement on sait très peu de chose sur la vie des différentes cellules à l'intérieur de l'organisme, que celui-ci soit normal ou malade. De ce côté, il reste beaucoup à faire.

Pour commencer, nous avons étudié en détail, chez le cobaye, les réactions des différentes cellules de la cavité abdominale provoquées par une injection de microbes dans le péritoine (toujours la même quantité, soit 2-3 cent. cubes).

Une, trois, cinq, vingt-quatre heures après l'injection, on tire une goutte d'exsudat et on fait des frottis qui sont ensuite colorés par les méthodes usuelles. A partir du second jour, faute de temps, l'exsudat n'a pu être pris qu'une fois par jour. Ce n'est certainement pas suffisant pour pouvoir bien éclaircir toutes les modifications qui se produisent dans le péritoine pendant vingt-quatre heures consécutives. Néanmoins les résultats obtenus méritent d'être signalés. Nous espérons d'ailleurs pouvoir recommencer ces expériences un peu plus tard.

Ordinairement, on compte, sur les préparations colorées, 200 leucocytes, et on peut calculer la fraction représentée par chaque type de cellules.

Nous avons choisi 3 cellules-types : le leucocyte polynucléaire (microphage), le monocyte (macrophage) et le lymphocyte.

Pour rendre les résultats de nos expériences plus démonstratifs, nous les avons traduits par des courbes. Les microphages sont dessinés en rouge, les macrophages en bleu, les lymphocytes en noir.

Nous avons fait les mêmes calculs pour les phagocytes. Si, sur 100 microphages, nous en avons trouvé 25 englobant les microbes, nous indiquons 25 pour l'index phagocytaire.

L'index phagocytaire des macrophages est indiqué sur les

courbes par des points rouges; celui des macrophages par des points bleus; enfin nous marquons par de petits ronds le nombre des autophages, c'est-à-dire des macrophages englobant les microphages.

Le nombre des cellules trouvées dans l'exsudat péritonéal joue aussi un très grand rôle dans l'immunité.

Il convient de rappeler que, chez un animal normal non immunisé, l'exsudat péritonéal est transparent et ne contient que de très rares éléments. On y trouve surtout des lymphocytes, des monocytes, mais très peu de polynucléaires.

Presque aussitôt après l'injection d'une substance, les leucocytes apparaissent en grand nombre et ce nombre augmente d'heure en heure. Entre vingt-quatre et quarante-huit heures après l'injection, l'exsudat devient parfois trouble, visqueux et contient des millions de cellules libres. Trois, quatre et cinq jours après, la quantité d'exsudat formé diminue très rapidement, et c'est avec de grandes difficultés qu'on parvient le plus souvent à l'extraire de la cavité péritonéale. Il faut alors faire deux et même trois ponctions pour obtenir une seule goutte d'exsudat.

Souvent, cinq ou six jours après l'injection, la quantité d'exsudat recommence à augmenter, mais il devient alors plus transparent et plus pauvre en leucocytes.

Au bout de dix à quinze jours, il a repris ses propriétés normales.

Nous avons commencé nos recherches par des injections de carmin. Nous avons préparé une émulsion de carmin à l'eau physiologique (5 %), que nous avons répartie dans des tubes à essais et stérilisée à 120°. La même émulsion nous a servi pour toutes nos expériences.

La *planche XIII* montre les réactions des cellules chez le cobaye 83 qui a reçu dans le péritoine l'émulsion de carmin.

La *courbe A* montre les réactions après la première injection d'émulsion de carmin (3 cent. cubes).

La *courbe B* donne le tableau des modifications provoquées chez ce même cobaye 83, après qu'il eut reçu 7 injections successives de carmin dans le péritoine. Trois semaines après la

dernière, il reçoit encore 3 cent. cubes de carmin. On prend alors tous les jours l'exsudat pendant neuf jours.

La courbe C montre l'allure des réactions chez le même cobaye après qu'il eut reçu 12 injections de carmin (pendant trois mois).

En comparant ces trois courbes, nous voyons que les injections de carmin successives modifient sensiblement les réactions des cellules du péritoine chez le cobaye :

La courbe A montre que, dans les premières heures après l'injection, c'est surtout le microphage qui commence à réagir fortement (plus de 90 p. 100). Vers la fin du premier jour, le nombre des microphages diminue rapidement. Les jours suivants, ce nombre reste stationnaire (30-40 p. 100). La phagocytose des microphages commence à se manifester d'une manière assez intensive vers la troisième, cinquième heure après l'injection et disparaît complètement vers le sixième jour.

A la fin du premier jour, et surtout du second, apparaissent, les macrophages qui commencent à englober, non seulement le carmin, mais aussi les microphages. Le nombre maximum de macrophages apparaît le troisième jour (60 p. 100); leur nombre diminue les jours suivants.

La phagocytose des macrophages est plus intense dans les trois premiers jours (points bleus). Elle diminue peu à peu vers le neuvième jour.

La courbe B montre une très grande diminution des microphages, mais, en revanche, le nombre des macrophages, et surtout des lymphocytes, a augmenté.

L'index phagocytaire des microphages et des macrophages est beaucoup moins élevé. La phagocytose des microphages commence plus tôt; elle atteint son maximum vers la sixième heure et elle se termine le cinquième jour. La phagocytose des macrophages est aussi forte que celle des microphages. Elle atteint son maximum (20 p. 100) vers le deuxième jour pour disparaître complètement vers le septième jour.

La courbe C montre les réactions des cellules et la phagocytose après 12 injections successives de carmin,

Nous avons toujours en premier lieu les réactions des microphages, mais ils commencent à réagir plus tôt et avec plus d'intensité. Vers la troisième heure après l'injection de carmin, le nombre des microphages monte jusqu'à 98 p. 100, pour retomber progressivement à 30 p. 100 la quatrième journée.

Ce qui est curieux, c'est la baisse considérable des macrophages. Leur courbe est très petite en comparaison des courbes précédentes.

La baisse de la phagocytose est aussi très sensible. Elle atteint à peine 15 p. 100 et dure seulement trois jours et demi.

En revanche, nous avons toujours la stimulation du système lymphocytaire qui monte jusqu'à 80 p. 100 et plus.

La planche XIV nous montre les réactions des cellules chez les animaux contaminés par des staphylocoques très virulents que nous devons à M. Urbain.

Le cobaye 66 (courbe D) reçoit deux fois dans la peau 0 c. c. 5 de staphylocoques chauffés à 58°. Deux semaines après la dernière vaccination, on lui injecte dans le péritoine 3 cent. cubes d'une émulsion de staphylocoques (une culture de vingt-quatre heures sur gélose).

Le cobaye 29 (courbe E) reçoit deux fois dans le péritoine 5 cent. cubes de staphylocoques chauffés à 58°. Deux semaines après, on lui injecte dans le péritoine 3 cent. cubes de staphylocoques très virulents.

Le cobaye 77 (témoin, courbe F) reste non immunisé. Il reçoit la même dose de staphylocoques très virulents.

L'exsudat péritonéal des trois cobayes est étudié sur les frottis colorés.

Pendant la première heure qui suit l'inoculation on ne trouve que très peu de leucocytes. Dès la deuxième heure les globules blancs apparaissent rapidement et en grande quantité (beaucoup plus vite chez les animaux immunisés que chez les autres). La phagocytose apparaît chez les animaux immunisés une heure après l'inoculation.

Chez le témoin, la phagocytose fait souvent défaut deux heures après. Si l'on compare les réactions des cellules chez les animaux immunisés et non immunisés, on est frappé par ce fait que l'index phagocytaire, chez le cobaye immunisé dans le péri-

toine, est moins grand que chez le cobaye immunisé sous la peau.

Mais ce qui est curieux, c'est que chez le témoin (courbe F, points rouges) l'index phagocytaire est beaucoup plus élevé que chez les animaux immunisés, et il reste à ce niveau jusqu'à sa mort.

Nous trouvons une seconde particularité chez les cobayes immunisés, c'est l'autophagie, c'est-à-dire l'englobement et la digestion des microphages par les macrophages. Les courbes D et E nous montrent que l'autophagie est moins forte chez l'animal immunisé dans le péritoine et fait complètement défaut chez les témoins.

Il est intéressant de noter, chez les animaux immunisés, l'apparition en grande quantité des lymphocytes (courbes D et E, lignes noires). Sans aucun doute, ces cellules jouent aussi un rôle important dans la lutte contre les microbes.

Nous avons fait aussi plusieurs expériences avec des staphylocoques très peu virulents (voir planche XV, courbes G et I).

Cobaye 22 (témoin) reçoit dans le péritoine 3 cent. cubes d'une émulsion très épaisse de staphylocoques (sur gélose de vingt-quatre heures).

Cobaye 21, préalablement immunisé par 3 injections de cultures chauffées, reçoit la même dose de staphylocoques non virulents.

Comme nous le montrent les courbes G et I, la réaction des macrophages est plus forte ici que chez les animaux infectés par des staphylocoques très virulents. Elle atteint son maximum le quatrième jour, 75 p. 100 chez le témoin et 50 p. 100 chez les animaux immunisés.

L'index phagocytaire des macrophages est colossal en comparaison de celui que l'on trouve dans les courbes D et E. Il est toujours plus grand chez le témoin non immunisé que chez les animaux immunisés.

Sur la même planche XV nous avons encore une courbe K montrant les réactions des cellules d'un cobaye (63) qui a reçu dans le péritoine une émulsion de *B. tumefaciens*. Ce microbe donne aussi une courbe très typique qui diffère beaucoup de celle des réactions des autres cobayes.

Nous voyons que le nombre des macrophages n'atteint son maximum (83 p. 100) qu'après trois jours.

Ce sont les macrophages qui nous donnent la plus grande courbe ; ils vont toujours en augmentant jusqu'à 80 et 88 p. 100.

Au contraire, la courbe des lymphocytes est très basse.

La phagocytose est assez intense dès les premières heures après l'injection, mais elle se termine très vite à la fin du premier jour. Tous les microbes sont rapidement englobés et digérés et on ne les trouve plus dans l'exsudat péritonéal après 10-20 heures.

La planche XVI nous montre la phagocytose et les réactions des cellules dans la tuberculose.

Cobaye 84. — Est immunisé sous la peau par une émulsion du vaccin B. C. G. ; quatre semaines après, il reçoit dans le péritoine une émulsion épaisse de bacilles tuberculeux [culture biliée] (1).

Cobaye 20. — Est tuberculeux depuis quatre semaines. Il reçoit dans le péritoine la même dose d'une émulsion de bacilles tuberculeux (courbe M).

Cobaye 6 (témoin), non immunisé. Reçoit dans le péritoine 3 cent. cubes d'une émulsion de bacilles tuberculeux (courbe N).

En comparant toutes ces courbes nous voyons, comme dans les expériences précédentes, trois ondes :

La première onde — des microphages — apparaît deux ou trois heures après l'injection des microbes ; elle retombe vers la fin du second jour.

La deuxième onde — des macrophages — commence vers la fin du premier jour et atteint le maximum la troisième journée.

(1) Nous devons à l'obligeance du professeur Calmette et des Drs Nègre et Boquet toutes les cultures biliées dont nous nous sommes servis, ainsi que le vaccin B. C. G. Nous nous faisons un plaisir de les remercier pour cet aimable concours.

La troisième onde — des lymphocytes — est la dernière et donne le maximum à la cinquième journée.

Il est très intéressant de constater que les trois cobayes ont donné des courbes très semblables avec leurs sommets à la première, troisième et cinquième journée.

L'index phagocytaire des microphages et des macrophages est beaucoup plus grand chez le témoin que chez le cobaye tuberculeux et le cobaye immunisé.

Au contraire, l'autophagie est très intense chez le cobaye immunisé, moins intense chez le cobaye tuberculeux.

Il ne faut pas oublier que tous ces chiffres ont une valeur relative. L'index phagocytaire dépend, non seulement de l'état d'immunité dans lequel se trouve l'organisme, mais aussi de la quantité et de la qualité des émulsions injectées.

Malheureusement, nous n'avons pu trouver une méthode assez bonne pour préparer des émulsions de bacilles tuberculeux. Il est certain qu'avec des émulsions plus homogènes que les nôtres nous aurions pu obtenir des index phagocytaires beaucoup plus élevés.

La dernière planche (planche V) nous montre les réactions des cellules chez les cobayes qui ont reçu dans le péritoine des doses mortelles de choléra M, que nous devons au D^r Salimbeni. Cette culture est assez virulente pour le cobaye et donne une maladie mortelle à la dose de 1/20-1/25 d'une culture sur gélose de vingt-quatre heures.

Courbe O nous représente les variations de la formule leucocytaire chez le cobaye 78 qui a reçu deux fois dans le péritoine le vaccin du choléra. Trois semaines après, il reçoit dans le péritoine 2 cent. cubes d'une émulsion de vibrions cholériques (1/20 de culture sur gélose).

Courbe P représente les variations de la formule leucocytaire chez le cobaye 43 immunisé sous la peau.

Courbe R nous donne la formule leucocytaire chez le cobaye 40 (témoin) qui a reçu la même dose de vibrions cholériques.

Ce cobaye a succombé à l'infection au bout de quinze heures.

A l'autopsie, on trouve l'exsudat transparent. Les intestins sont congestionnés et diarrhéiques. L'épiploon apparaît vascularisé.

L'examen méthodique de la sérosité péritonéale montre que chez les animaux vaccinés on trouve, une heure après l'injection des microbes, une grande quantité de leucocytes.

Cet afflux des leucocytes (surtout celui des microphages) provenant du torrent circulatoire marque donc le commencement de la véritable lutte qu'ils vont engager contre les vibrions. En effet, tous les vibrions disparaissent très vite. On ne les trouve plus dans le péritoine. Ce sont surtout les microphages qui prennent part à cette lutte. Les macrophages et les lymphocytes n'arrivent que plus tard sur le champ de bataille (voir pl. XVII).

En comparant la planche XVII (choléra) avec la planche XVI (tuberculose), nous voyons qu'il y a une grande différence entre elles. Dans la tuberculose, ce sont surtout les macrophages qui prédominent dès les premiers jours.

Dans le choléra, ce sont les microphages (polynucléaires) qui jouent le rôle principal (ligne rouge), mais c'est toujours dans les cas d'immunité. Tout autre est le tableau chez le cobaye non immunisé (courbe R). L'étude des sérosités montre que les microphages, ainsi que tous les autres éléments, sont très peu nombreux. L'activité des phagocytes cesse entièrement. Seul subsiste le pouvoir bactéricide de la sérosité, mais ce pouvoir ne suffit pas à arrêter la multiplication des vibrions. La quantité des leucocytes est si restreinte qu'on a de grandes difficultés à calculer la formule leucocytaire du cobaye mourant.

D'après les expériences de Bordet (1) on sait que la pénétration dans le sang d'une certaine quantité de vibrions provoque la disparition des leucocytes. Ces derniers, par l'effet d'une chimiotaxie négative, se réfugieraient dans les organes.

En résumé, les doses mortelles de vibrions provoquent, chez les animaux immunisés, la diapédèse des leucocytes et l'intervention de la défense leucocytaire; chez les animaux non

(1) Ces *Annales*, 1893, p. 462.

immunisés elles jouent le rôle d'agressives, c'est-à-dire qu'au lieu d'attirer les leucocytes elles les repoussent.

On a souvent affirmé que, chez les animaux qui meurent à la suite d'une infection très aiguë, la phagocytose ne peut intervenir ; mais cela n'est pas exact. Sanarelli (1), dans son excellent travail sur la pathogénie du choléra, écrit : « Même dans « la péritonite cholérique avec issue rapidement mortelle, la « phagocytose entre en scène, peut-être d'une façon très lente, « mais avec d'indiscutables résultats locaux.

« Vers la dixième heure, on remarque soudain, au niveau de « l'épiploon, l'apparition d'une forte diapédèse et la reprise de « la défense phagocytaire. En ce moment l'organisme, bien « qu'irréremédiablement atteint, se réveille, se ressaisit, et « esquisse une ultime défense, révolte tardive et non proportionnée au besoin extrême. »

Nous avons souvent observé des faits analogues dans les infections mortelles chez les chenilles et chez les cobayes infectés par une dose mortelle de staphylocoques, mais avec cette différence que les phagocytes ne sont pas repoussés par les agressives et que la phagocytose apparaît dans les premières phases pour augmenter toujours d'intensité jusqu'à la mort.

Nous avons étudié jusqu'à présent les réactions des cellules dans l'exsudat péritonéal, mais nous pensons que, dans l'étude d'un phénomène si complexe le seul examen de la sérosité péritonéale ne suffit pas. Nous sommes tout à fait d'accord avec M. Sanarelli qui a porté ses recherches sur des organes tels que le mésentère et l'épiploon, dont la fonction de défense pour le péritoine est un fait bien acquis.

Nous avons fait aussi toute une série d'expériences pour étudier les réactions cellulaires dans l'épiploon et le mésentère, mais ces travaux ne sont pas encore terminés et nous espérons revenir sur ce sujet dans un autre mémoire.

Pour le moment, nous voulons seulement dire que les réactions de défense commencées dans l'exsudat péritonéal ne finissent pas dans l'épiploon. Le microbe et ses toxines passent

(1) SANARELLI, De la pathogénèse du choléra (Deuxième mémoire). Ces *Annales*, t. XXXIV, p. 276.

souvent dans le sang et *ipso facto* dans les autres organes : rate, foie, poumons, reins, glandes surrénales, etc., et même dans le système nerveux. Tous ces organes avec leurs cellules réagissent aussi plus ou moins et prennent part à cette lutte contre le microbe.

Quel que soit l'endroit où les cellules commencent à réagir, leurs réactions se propagent successivement dans toutes les parties de l'organisme.

Cette activité cellulaire peut durer assez longtemps; elle ne cesse que lorsque l'organisme trouve le moyen de se débarrasser de la cause excitante et de rétablir son équilibre rompu.

Conclusions.

En comparant toutes les courbes que nous avons obtenues en injectant différents microbes dans le péritoine, nous trouvons qu'il existe une spécificité des réactions cellulaires : les réactions produites, par exemple, par le choléra (pl. XVII, courbe O. P. R.) ont quelque chose de typique qui les différencie de celles produites par la tuberculose ou les staphylocoques (courbes D. E. F. et L. M. N.), etc.

En étudiant ces courbes, nous voyons très bien qu'il n'existe entre elles aucune similitude complète; au contraire, chacune d'elles a quelque chose d'individuel; chaque courbe donnée par un microbe diffère de toutes celles produites par ce même microbe. Nous pouvons répéter l'expérience dix fois : chaque fois nous obtiendrons une courbe originale.

De ce point de vue, on peut dire que chaque réaction, chaque manifestation de l'organisme, a pour ainsi dire son individualité et représente un fait non réitérable de la nature (1).

La succession du jour et de la nuit est le phénomène le plus régulier de la nature; on peut pourtant dire sans exagération qu'il n'y a pas deux jours absolument identiques si l'on prend en considération toutes les particularités de chaque jour (température, pression atmosphérique, humidité, nuages, vents, etc.).

(1) MÉTALNIKOV, Le réflexe en tant qu'acte créateur. *Bull. de l'Inst. gén. Psychol.*, 1919.

Il en est de même en ce qui concerne n'importe quelle manifestation vitale.

Dans son ensemble toute manifestation vitale est individuelle et ne se répète pas, bien qu'ayant des traits communs avec d'autres manifestations semblables.

C'est ce que nous voyons dans nos courbes. Chaque courbe est originale, mais elle a toujours quelque chose d'analogue avec les courbes du même genre.

Nous trouvons facilement ces traits communs et typiques dans les réactions produites par le choléra, les staphylocoques et par tout autre microbe.

Nos courbes nous montrent aussi que l'immunisation change sensiblement les réactions des cellules. Nous voyons que non seulement la formule leucocytaire, mais qu'aussi l'activité des cellules varie d'une manière très démonstrative.

Les réactions leucocytaires et phagocytaires commencent beaucoup plus vite et sont plus intenses pendant les premières heures chez les animaux immunisés que chez les témoins. Chez l'animal neuf la phagocytose apparaît plus tard, mais elle dure beaucoup plus longtemps que chez l'animal immunisé.

Tandis que, chez les animaux neufs, l'index phagocytaire a une tendance à s'accroître, celui-ci baisse rapidement au contraire chez les animaux immunisés. Cette règle est générale. Quelle est l'explication de ce fait paradoxal?

Nous pensons que la diminution de l'index phagocytaire est le résultat de la diminution et de la disparition des microbes dans le péritoine : deux, trois heures après l'injection, tous les microbes sont englobés par les phagocytes et à moitié digérés. On n'en trouve plus à l'état libre dans le péritoine. Cependant, chez les animaux neufs, la quantité de microbes libres augmente progressivement et les phagocytes ne sont pas capables de les surmonter. C'est pourquoi tous les phagocytes sont bourrés de microbes. Mais comment expliquer ce phénomène chez les animaux injectés avec du carmin, substance indigeste? Pourtant nous trouvons aussi cette baisse typique de l'index phagocytaire chez les cobayes qui en reçoivent plusieurs fois dans le péritoine.

Nous pensons qu'à la lutte contre les microbes et les subs-

tances indigestes prennent part, non seulement les phagocytes, mais aussi l'épiploon et le mésentère (faits très bien démontrés dans le travail de Sanarelli). L'épiploon et le mésentère s'immunisent aussi et deviennent beaucoup plus actifs dans cette lutte. C'est pourquoi le rôle des phagocytes libres dans le péritoine diminue considérablement. Nous ne voulons pas passer sous silence encore cette question : quelle est la cause de l'augmentation de l'activité cellulaire chez les animaux immunisés? Sont-ce les cellules qui changent leur activité, leur sensibilité envers l'un ou l'autre microbe, ou sont-ce les causes extérieures, causes physico-chimiques, qui influencent les cellules? Autrement dit, les cellules sont-elles capables de s'immuniser?

Nous avons maintenant des preuves indiscutables que les cellules peuvent s'immuniser. Nous devons citer premièrement les travaux de Petterson (1) et de Salimbeni (2) qui ont réussi à démontrer que les phagocytes des animaux immunisés, bien lavés et débarrassés des humeurs, transmettent leur immunité à un animal neuf. Plusieurs travaux qui ont paru ces dernières années nous donnent de nouveaux arguments en faveur de cette hypothèse: Fiscornia (3) a démontré que les extraits de leucocytes bien lavés d'un cobaye immunisé contre le bacille typhique protègent un animal neuf contre ces bacilles, alors que les extraits des leucocytes lavés d'un cobaye normal ne le font pas.

Dans un travail de Marginesu (4), nous trouvons des faits intéressants sur la phagocytose des bacilles charbonneux. D'après cet auteur, les leucocytes d'un lapin immunisé englobent très bien les bacilles charbonneux, tandis que les phagocytes d'un lapin neuf ne sont pas capables, dans les mêmes conditions, d'englober ces bacilles.

M. Mittermeier (5) a fait récemment des expériences analogues avec des staphylocoques. Il a vacciné 6 lapins avec des

(1) PETTERSON, Ueber die Bedeutung der Leucocyten bei der intraper. infect. *Centr. f. Bact.*, t. XIII.

(2) SALIMBENI, Les modifications des globules blancs dans l'immunité acquise. *Ann. Inst. Pasteur*, 23.

(3) FISCORNIA. *Riforma medica*, 1921, p. 196.

(4) MARGINESU. *R. Accademia dei Fisiocritici in Siena*, 1921.

(5) MITTERMEIER. *Cent. f. Bacter.*, B. 93, 1924, p. 240.

cultures de ces microbes : les leucocytes de ces animaux qui, avant la vaccination, ne phagocytèrent pas les staphylocoques, ont commencé, huit jours après la vaccination, à les englober.

Carra (1) a fait des expériences très intéressantes sur la résistance des globules rouges et blancs des animaux immunisés et normaux.

Après avoir bien immunisé les lapins contre les staphylocoques avec ses hémolysines et leucocidines, il a démontré que les globules rouges et blancs résistent beaucoup mieux aux toxines des staphylocoques que les cellules des animaux non immunisés.

Les leucocytes des animaux immunisés, soumis pendant trois heures à l'action de ces toxines, conservent leur vitalité et englobent très bien les microbes, tandis que les leucocytes des animaux normaux sont altérés et ne phagocytent plus.

Les globules rouges des animaux non vaccinés sont facilement hémolysés dans les filtrats des cultures de staphylocoques (dilution : 1/50 et même 1/100). Les globules des animaux immunisés résistent très bien et ne s'hémolysent pas.

Nous devons enfin citer les travaux remarquables de Schultz, Dale et autres, sur les organes isolés.

W. Schultz (2) est le premier qui ait appliqué les méthodes des organes isolés pour l'étude de l'immunité et l'anaphylaxie. Il prenait des organes d'animaux immunisés et les suspendait dans le sérum artificiel. L'addition au bain de minimales quantités d'antigènes provoque une réaction très forte des organes sensibilisés, tandis que les organes des animaux normaux non immunisés réagissent très peu, presque pas.

Dale (3) fit des recherches analogues sur l'utérus du cobaye. L'utérus du sujet immunisé, isolé et débarrassé de toute trace de sang ou de sérum, se contracte violemment au contact d'une faible quantité d'antigène. Tandis que l'utérus sensibilisé se contracte après l'addition au bain de 0 c.c. 025 et même 0 c.c. 0025 d'antigène, l'utérus normal ne réagit pas même à 1 cent. cube de cet antigène.

Le muscle utérin provenant d'un animal immunisé vis-à-vis

(1) CARRA. *Zeit. f. Imm.*, t. XXXIX, 1924, p. 383.

(2) SCHULTZ. *Journ. Pharm. Expér. Thérap.*, 1910.

(3) DALE. *Journ. Pharm. Expér. Thérap.*, p. 1912-1913.

de différents antigènes, irrigué successivement par chacun d'eux, donne lieu chaque fois à une contraction caractéristique. Les mêmes résultats sont obtenus sur les animaux immunisés contre les microbes par Zinsser et Parker (1).

Le cœur isolé du lapin et du cobaye immunisés est aussi sensibilisé que le sont l'intestin et l'utérus [A. Cesaris Demel (2), Launoy (3)] et cette sensibilité est propre aux cellules et ne dépend pas des humeurs et du sang comme l'ont bien démontré Coca, Fenyvessy, Freund et autres.

Coca prenait des animaux immunisés (activement et passivement) et remplaçait leur propre sang par le sang délobriné d'un animal normal. Il a ainsi réussi à éliminer l'action des humeurs et des anticorps. Cependant, la sensibilité des cellules envers l'antigène donné se conservait complètement (4).

Tous ces faits nous montrent que les cellules de l'organisme inoculé avec un microbe ou une substance albuminoïde hétérogène ont été modifiées de telle sorte qu'elles vont réagir avec plus d'intensité à l'introduction de cet antigène. On peut dire que, pendant l'immunisation, toutes les cellules se mobilisent contre les microbes ou l'antigène donné, comme s'il s'agissait pour elles de combattre un véritable ennemi. Si cet antigène ennemi réapparaît dans l'organisme, les phagocytes se précipitent avec une grande rapidité sur lui. Toutes les autres cellules réagissent aussi. Il se produit une réaction inflammatoire, une suppuration, un abcès. Toutes ces réactions des cellules sont très utiles en elles-mêmes pour l'organisme parce qu'elles empêchent la pénétration des microbes dans le sang et dans les cavités du corps. Plus les cellules sont sensibles, plus elles réagissent intensément pour défendre l'organisme.

1) H. ZINSSER et PARKER. *Journ. of Exper. Med.*, vol. XXXVII et vol. XXXIV.

2) CESARIS DEMEL. *Arch. Ital. de Biol.*, 1910.

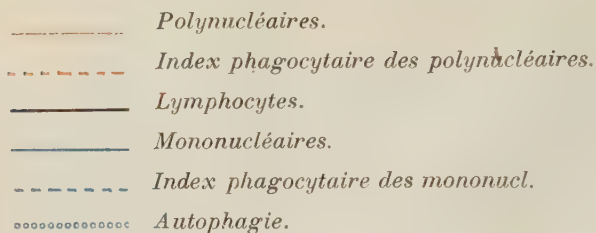
3) LAUNOY. *Ces Annales*, 1911.

4) COCA. *Zeit. f. Immun.*, 1914 ; *Journ. of Immunol.*, 1919.

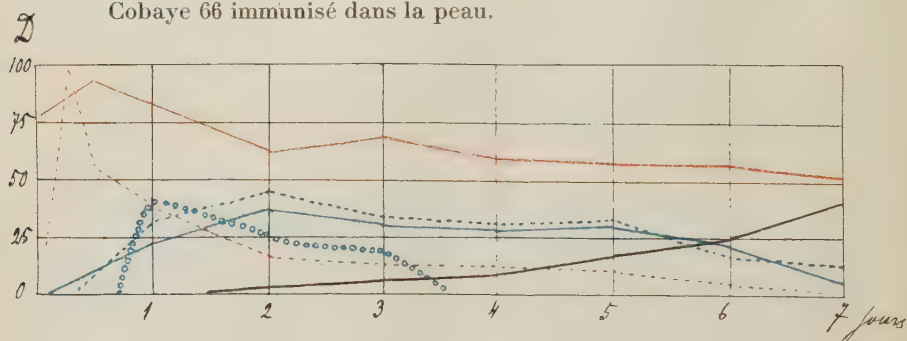
Le Gérant : G. MASSON.

Injections des staphylocoques très virulents. TOME XXXIX, PL. XIV.

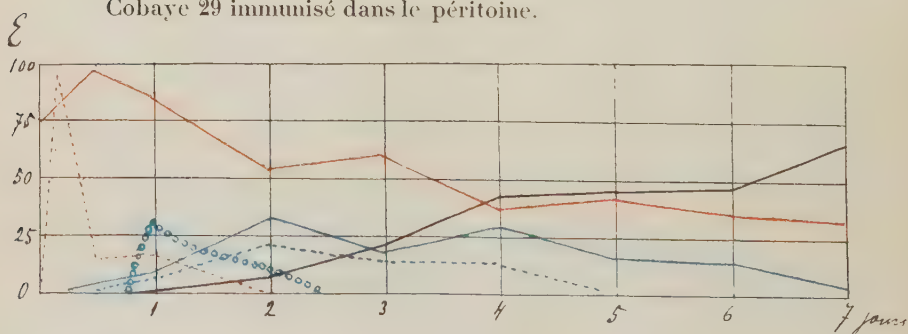
(Mémoire METALNIKOV.)



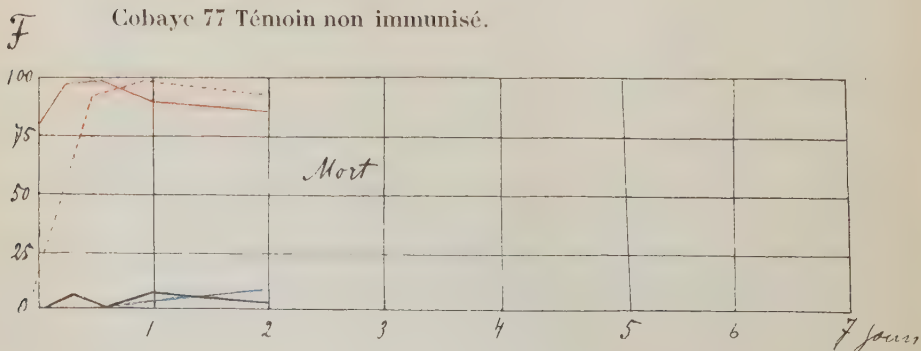
Cobaye 66 immunisé dans la peau.



Cobaye 29 immunisé dans le péritoine.

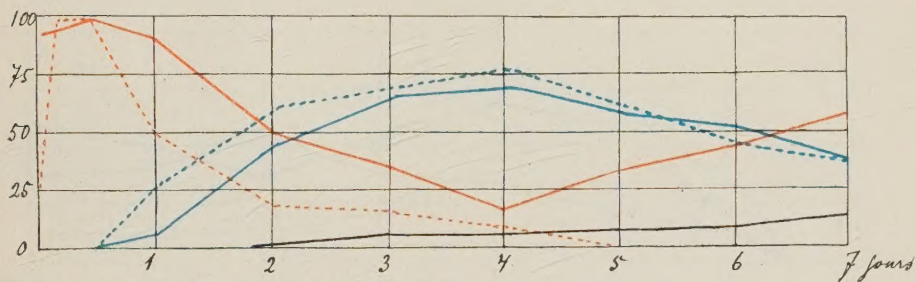


Cobaye 77 Témoin non immunisé.

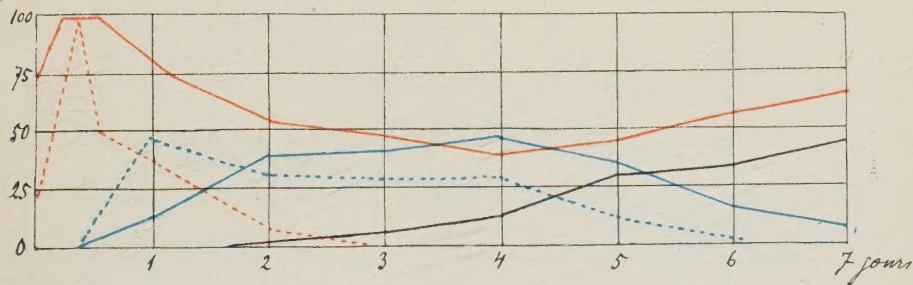


- Polynucléaires.
- - - Index phagocytaire des polynucléaires.
- Lymphocytes.
- Mononucléaires.
- - - Index phagocytaire des mononucl.
- Autophagie.

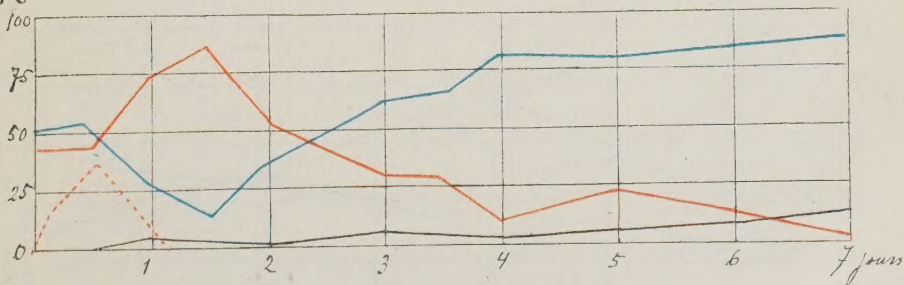
g Cobaye 22 Témoin non immunisé.



γ Cobaye 21 immunisé dans le péritoine.

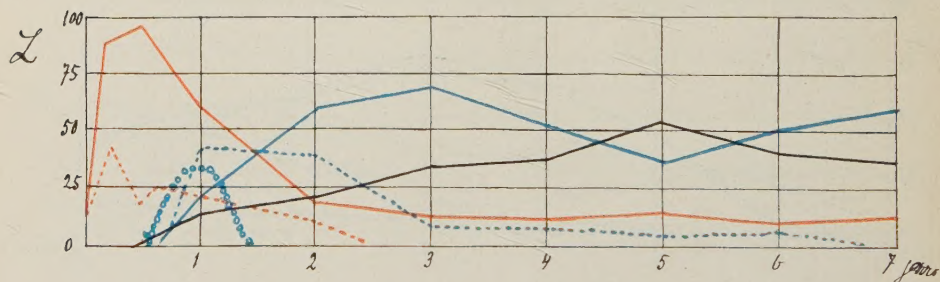


K Cobaye 63 injecté par le B. Tumifaciens.

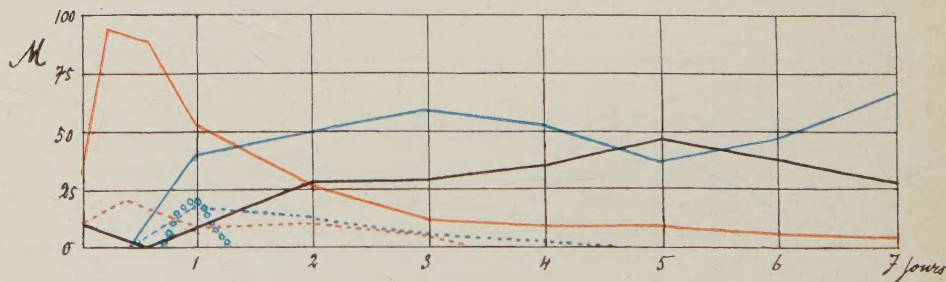


- Polynucléaires.
- - - Index phagocytaire des polynucléaires.
- Lymphocytes.
- Mononucléaires.
- - - Index phagocytaire des mononucl.
- Autophagie.

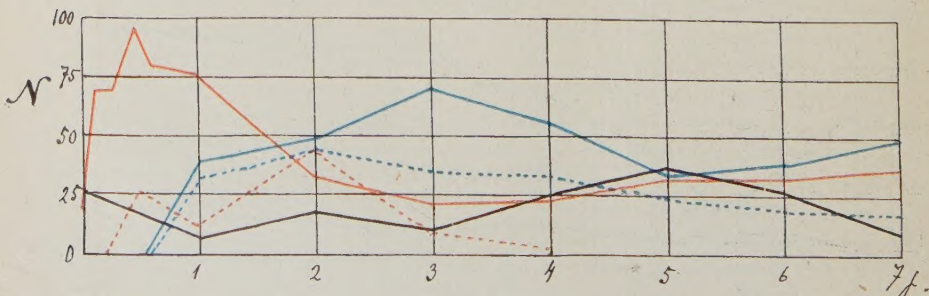
Cobaye 84 immunisé sous la peau.



Cobaye 20 tuberculeux.

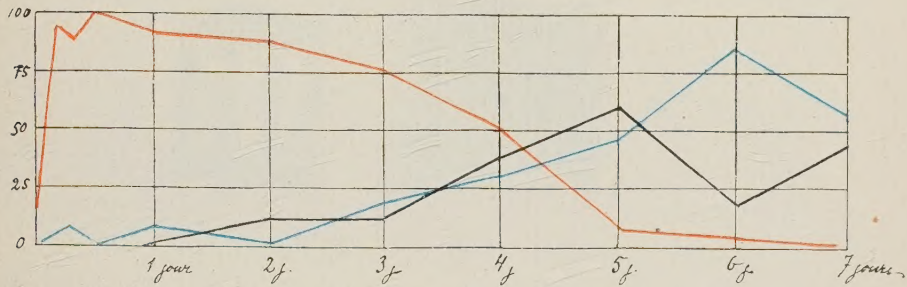


Cobaye 6 Témoin non immunisé.

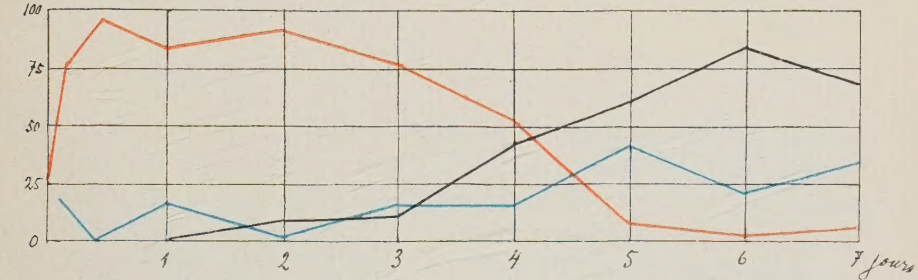


- Polynucléaires.
- Index phagocytaire des polynucléaires.
- Lymphocytes.
- Mononucléaires.
- Index phagocytaire des mononucl.
- Autophagie.

Cobaye 78 immunisé dans le péritoine.



Cobaye 43 immunisé sous la peau.



Cobaye 40 Témoin non immunisé.

